

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Máster

**Técnicas de segmentación de células
flotantes en patologías oftalmológicas
(Floating cells segmentation techniques in
ophthalmic pathologies)**

Para acceder al Título de

***Máster Universitario en Ciencia e
Ingeniería de la Luz***

Autor: Gonzalo Santos Perodia

Directores: Olga M^a Conde Portilla y Eusebio Real Peña

Julio 2020



E.T.S. DE INGENIEROS INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACION

MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LA LUZ

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

Realizado por: Gonzalo Santos Perodia.

Director del TFM: Olga M^a Conde Portilla y Eusebio Real Peña.

Título: “Técnicas de segmentación de células flotantes en patologías oftalmológicas”

Title: “Floating cells segmentation techniques in ophtalmic pathologies”

Presentado a examen el día: 31 de Julio de 2020

para acceder al Título de

MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LA LUZ

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Moreno Gracia, Fernando.

Secretario (Apellidos, Nombre): Fanjul Vélez, Félix.

Vocal (Apellidos, Nombre): Lomer Barboza, Mauro.

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de:

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

Fdo.: El Director del TFM
(sólo si es distinto del Secretario)

Vº Bº del Coordinador

Trabajo Fin de Máster Nº
(a asignar por Secretaría)

Este trabajo se ha realizado gracias a los recursos proporcionados por el proyecto de investigación Diagnóstico Automatizado de Patologías Oftalmológicas mediante OCT (DAPATOO, INNVAL 18/23), financiado por la Fundación Instituto De Investigación Marqués De Valdecilla.

Resumen

La uveítis es una enfermedad ocular que afecta a un alto porcentaje de la población y puede conllevar a la ceguera total del ojo afectado. Esta patología produce una inflamación en la que se promueven cambios celulares formándose células flotantes en la cámara anterior. El número de agregados indica la severidad de la uveítis. El examen clásico para su conteo (*Tyndall*) consiste en un haz de luz proyectado desde la lámpara de hendidura a la córnea y cámara anterior. Éstas son contabilizadas de manera visual por el oftalmólogo y se gradúan en una escala de 0 a 4. El método *Tyndall* es una técnica subjetiva que contiene el sesgo del examinador.

En este trabajo, se presenta el conteo de estos agregados sobre tomografías de coherencia óptica (OCT). Sin embargo, no puede realizarse objetivamente de una manera directa debido a la presencia de un ruido moteado característico denominado *speckle*. Por ello, se propone una técnica de segmentación pseudo-automatizada que permite caracterizar estas células flotantes. El algoritmo propuesto se basa en la distribución estadística del *speckle* (valor medio y desviación estándar) para determinar los píxeles asociados a los agregados. Este algoritmo se ha aplicado en tomografías correspondientes a 25 pacientes con uveítis.

Palabras clave: uveitis, células flotantes, *Tyndall*, conteo, OCT, *speckle*, segmentación pseudo-automatizada, distribución estadística.

Abstract

Uveitis is an eye disease that affects a high percentage of the population and can lead to total blindness in the affected eye. This pathology produces an inflammation in which cellular changes are promoted by floating cells forming in the anterior chamber. The number of aggregates indicates the severity of uveitis. The classic count test (*Tyndall*) consists of a beam of light projected from the slit lamp to the cornea and anterior chamber. These are visually counted by the ophthalmologist and are graded on a scale of 0 to 4. The *Tyndall* method is a subjective technique that contains the bias of the examiner.

In this work, the count of these aggregates on optical coherence tomography (OCT) is presented. However, it cannot be done objectively in a direct way due to the presence of a noise characteristic called *speckle*. Therefore, a pseudo-automated segmentation technique is proposed to characterize these floating cells. The proposed algorithm is based on the statistical distribution of the *speckle* (mean value and standard deviation) to determine the pixels associated with the aggregates. This algorithm has been applied in tomographies corresponding to 25 patients with uveitis.

Key words: uveitis, floating cells, *Tyndall*, count, OCT, *speckle*, pseudo-automated segmentation, statistical distribution.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias a los recursos proporcionados por el proyecto de investigación Diagnóstico Automatizado de Patologías Oftalmológicas mediante OCT (DAPATOO, INNVAL 18/23), financiado por la Fundación Instituto De Investigación Marqués De Valdecilla.

Además, quiero expresar mis agradecimientos a:

A Olga y a Eusebio por ayudarme siempre que han podido y por haber haberme dejado libertad a la hora de enfocar este proyecto. Se agradece mucho la confianza depositada por su parte y por dejarme tomar mis propias decisiones contando con su apoyo.

Índice general

1. Introducción	4
2. Objetivos y esquema de trabajo	6
2.1. Objetivos	6
2.2. Esquema de trabajo	6
3. Fundamento teórico	8
3.1. OCT	8
3.2. Muestra biológica en OCT	12
3.3. <i>Spectral domain</i> - OCT	15
3.4. Origen del <i>speckle</i>	16
3.5. Modelos estadísticos del <i>speckle</i>	18
3.5.1. Distribución Rayleigh	18
3.5.2. Distribución Rician	18
3.5.3. Distribución Gamma	19
3.5.4. Distribución Weibull	19
3.5.5. Distribución Nakagami	19
3.5.6. Distribución Generalized Gamma	19
3.6. El ojo	20
3.7. Uveítis	21
4. Materiales y Método	24
4.1. Muestras de los pacientes y equipo OCT	24
4.2. Algoritmo propuesto	24
5. Resultados	30
5.1. Modelo estadístico del <i>speckle</i>	30
5.2. Segmentación de agregados celulares en ojos con uveítis	33
5.3. Segmentación en ojos control	47
6. Conclusiones	51

Capítulo 1

Introducción

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica de imagen que proporciona imágenes cuasihistológicas in vivo de los tejidos oculares con una resolución superior a otras técnicas tomográficas no invasivas, como ultrasonidos o resonancias magnéticas [1]. Desde la introducción del OCT hace dos décadas, ha cambiado drásticamente la comprensión y el manejo de varias afecciones oculares.

Este instrumento genera luz de banda ancha que se divide en un brazo de referencia y un brazo donde se encuentra la muestra a evaluar (el ojo). A medida que la luz de este segundo brazo pasa a través de los tejidos oculares, se modifica por la interacción luz-materia con las diferentes estructuras que encuentra. El dispositivo OCT recoge la luz alterada del brazo de muestra y la compara con la señal pura que proviene del brazo de referencia. La interferencia de la señal entre los dos brazos se utiliza para generar una imagen donde la intensidad varía según la relación de fase entre los dos haces [2]. A partir de este patrón de interferencia, es posible obtener el perfil de reflectancia de la muestra ocular, y realizando un barrido en el eje axial, una tomografía.

El ojo es un órgano que detecta la luz y es la base del sentido de la vista. Está formado por diversos tejidos biológicos. Estos tejidos a su vez, están compuestos por diferentes tipos de partículas. Estas partículas interactúan con la radiación electromagnética mediante distintos mecanismos: absorción, refracción, reflexión, dispersión.... Dentro de la dispersión se producen dos fenómenos principales: múltiples eventos de dispersión hacia adelante (*multiple forward scattering*) y múltiples eventos de dispersión hacia atrás (*multiple backward scattering*) [3]. Las ondas retrodispersadas desde cualquier par de dispersores pueden generar interferencia cuando estén separados por una distancia óptica cercana a un múltiplo impar de la mitad de la longitud de onda incidente. Esta interferencia se muestra en la tomografía como un ruido moteado característico denominado *speckle* [4].

Desde el punto de vista de aplicación médica, la inflamación es una respuesta del cuerpo a estímulos nocivos [5]. El proceso inflamatorio promueve cambios en el suministro de sangre, los componentes celulares y el ambiente químico del área involucrada. Estas modificaciones estructurales y funcionales pueden resultar en cambios transitorios o permanentes en los tejidos.

La uveítis incluye un amplio grupo de respuestas inflamatorias que van desde entidades infecciosas a condiciones autoinmunes que pueden apuntar a una estructura ocular específica o involucrar al ojo entero. En concreto, la uveítis anterior (AU) se define como una afección inflamatoria ocular en la que la cámara anterior del ojo es el sitio primario de inflamación. El hallazgo principal en los ojos diagnosticados con AU es la presencia de células flotantes en la cámara anterior [5]. Estos agregados celulares aparecen en las tomografías como puntos hiperreflectantes. El grado de inflamación ocular en la cámara anterior únicamente se ha conseguido evaluar mediante la presencia de estos agregados en el humor acuoso.

Esta patología es responsable de 30.000 nuevos casos de ceguera legal anualmente en los Estados Unidos y representa alrededor del 10-15 % de todos los casos de ceguera total en este país [6]. Se estima que en España afecta a unas 47.000 personas y, junto con la Diabetes Mellitus, constituye la principal causa de ceguera en el grupo de edad laboral activa teniendo por ello un alto impacto socioeconómico [7].

Si esta enfermedad se encuentra muy desarrollada puede conllevar a la ceguera total del ojo afectado, por lo que la detección precoz tiene una gran relevancia. El examen clásico para su conteo es comúnmente llamado *Tyndall* por los especialistas debido a que se basa en dicho efecto. Consiste en un haz de luz de 1x1 mm proyectado desde la lámpara de hendidura a la córnea y cámara anterior. El número de células visibles son contabilizadas de manera visual por el oftalmólogo y se gradúan en una escala de 0 a 4 [8]. Este método está sometido a una valoración subjetiva por parte del examinador. La ausencia de una escala lineal que refleje la evolución de la inflamación podría no identificar mejorías clínicamente relevantes [9].

La tomografía de coherencia óptica permite caracterizar estos agregados de una manera más cuantitativa. Sin embargo, el ruido moteado *speckle* dificulta el conteo de estos agregados de forma directa. Hasta ahora, este problema ha sido abordado siempre a través de algoritmos de procesamiento de imagen (*Gaussian filtering* [10,11], *Total Generalized Variation* [10], *Anisotropic filtering* [10], BM3D [12], *General Bayesian* [12]...)

El principal problema reside en que cada tomografía presenta diferente relación señal-ruido debido al cambio de la sensibilidad necesaria para una correcta visualización del tejido en cada paciente, tejido y muestra. El nivel de ruido es más problemático en unas imágenes que en otras, y por tanto, los algoritmos de procesamiento de imagen no son siempre los mismos. Para facilitar el conteo de los agregados en el humor acuoso, se presenta en este documento un método basado en la distribución estadística del *speckle* que permite determinar los píxeles asociados a los agregados.

El algoritmo propuesto se basa en comparar la distribución estadística (desviación estándar y valor medio) de los píxeles fuera de la córnea con la de los píxeles presentes en el interior de la cámara anterior. Los píxeles fuera de la córnea se asocian al ruido *speckle* y los píxeles dentro de la cámara se asocian al ruido *speckle* y a los agregados celulares. Comparando estas magnitudes en ambas regiones, es posible determinar la intensidad de las células flotantes y por tanto segmentarlas.

Capítulo 2

Objetivos y esquema de trabajo

2.1. Objetivos

Este proyecto ha sido planteado para cumplir con los siguientes objetivos:

- Estudiar el origen físico del *speckle* y analizar la distribución matemática que mejor describe su comportamiento. Este estudio se realizará sobre el ruido moteado característico de las tomografías de coherencia óptica.
- Analizar la distribución estadística, en concreto las magnitudes valor medio y desviación estándar de los píxeles que presenta la tomografía fuera de la córnea y en el interior de la cámara anterior. Fuera de la córnea los píxeles están asociados al ruido característico *speckle*. En el interior de la cámara anterior los píxeles están asociados al ruido *speckle* y a los agregados celulares provocados por la uveítis. Para determinar estas magnitudes, se han considerado distintas matrices de vecindad: 3×3 , 5×5 , 7×7 y 9×9 . Dependiendo del tamaño de la matriz, se varía el número de píxeles alrededor considerados para determinar el valor medio y la desviación estándar de cada píxel.
- A través de la comparación de estas magnitudes en ambas regiones se segmentarán las células flotantes para que los oftalmólogos puedan medir la evolución de esta enfermedad.

2.2. Esquema de trabajo

Para poder obtener e interpretar los resultados de este trabajo, se ha realizado en primer lugar una revisión de la literatura. Esta incluye los siguientes conceptos: el origen del *speckle*, los modelos matemáticos que mejor describen su comportamiento, la interferometría producida en el dispositivo OCT, la interacción de la luz con el tejido biológico, la fisiología del ojo y la uveítis.

Con el fin de cumplir los objetivos planteados, se han seguido los siguientes pasos:

- Se analiza la distribución matemática que presenta el ruido característico *speckle* en las tomografías oculares. Para ello, se ajusta su correspondiente histograma a las funciones

de densidad de probabilidad y a las funciones de distribución acumulada de los modelos matemáticos que mejor funcionan teóricamente. A partir de este análisis, se deduce cuál de las distribuciones matemáticas describe de manera óptima su comportamiento.

- Programación de un algoritmo en el entorno MATLAB que permita mejorar la visualización de los agregados celulares incrementando su contraste en pacientes con uveítis. Este algoritmo consta de los siguientes pasos:
 - Selección de una región fuera de la córnea y una región en el interior de la cámara anterior.
 - Analizar la distribución estadística de ambas regiones para varias matrices de vecindad (3×3 , 5×5 , 7×7 y 9×9).
 - Se observa que los valores (media, desviación estándar) de ambas regiones solapan hasta un punto a partir del cual la región en el interior de la cámara presenta valores mayores. Esto se debe a la presencia de agregados celulares.
 - Este punto se usará como umbralización. Se debe elegir la matriz de vecindad en la que más claro pueda observarse este punto de umbralización.
 - Segmentación de las células flotantes.
- Este algoritmo ha sido empleado en tomografías oculares de 25 pacientes con uveítis. Los agregados celulares segmentados han sido comparados con los obtenidos a través de la segmentación manual.
- Este algoritmo ha sido empleado también en 8 tomografías de ojos sanos como elementos de control para probar que el método funciona adecuadamente.

Este proyecto se ha organizado en los siguientes capítulos para una adecuada comprensión por parte del lector:

- Capítulo 3: Se explican los fundamentos teóricos que son necesarios conocer para poner en contexto el documento como pueden ser: la interferometría producida en OCT, la interacción de la luz con el tejido biológico, el origen del *speckle*, los modelos estadísticos que mejor describen este fenómeno, la anatomía del ojo, la uveítis y sus técnicas de diagnóstico y evolución.
- Capítulo 4: Se describe paso a paso el algoritmo propuesto para la segmentación de agregados en pacientes con uveítis.
- Capítulo 5: Se presentan los resultados. Estos incluyen el ajuste del ruido *speckle* a distintos modelos matemáticos, aplicación del algoritmo en ojos con uveítis y aplicación del algoritmo en ojos sanos.
- Capítulo 6: Se exponen las conclusiones obtenidas en este proyecto.
- Apéndice: Se muestran las representaciones valor medio versus desviación estándar para observar el punto de umbralización escogido en la segmentación de los agregados en cada uno de los pacientes con uveítis.

Capítulo 3

Fundamento teórico

3.1. OCT

El OCT es un sistema de imagen tomográfica basado en el interferómetro de Michelson. Su funcionamiento se basa en la división de un haz de luz en dos haces para que recorran caminos diferentes y luego converjan nuevamente en un punto. De esta forma se obtiene lo que se denomina la figura de interferencia que permitirá medir pequeñas variaciones en cada uno de los caminos seguidos por los haces. El principio de interferometría de baja coherencia en el que se basa es un método que puede ser empleado para evaluar y caracterizar las distintas capas que forman el tejido a evaluar, midiendo la luz reflejada por cada una de estas [4]. La intensidad reflejada por cada una de ellas dependerá a su vez del correspondiente índice de refracción y del ángulo de incidencia.

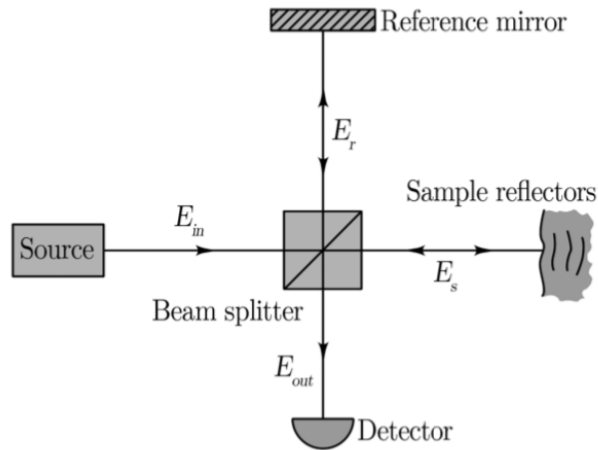


Figura 3.1: Sistema OCT básico, basado en un interferómetro Michelson [14].

El interferómetro de Michelson está compuesto por una fuente de luz, un divisor de haces, un espejo de referencia y un detector. El primero es una fuente de baja coherencia que emite un haz luminoso de banda ancha generalmente en el espectro infrarrojo. Este haz se divide en

dos haces en el divisor, uno de los cuales irá dirigido al espejo de referencia, que se encuentra a una distancia conocida, y el otro a la muestra (ojo humano). Después se compara la luz reflejada desde la retina con la luz reflejada por el espejo de referencia y, cuando ambos reflejos coinciden en el tiempo, se produce el fenómeno de interferencia, que es captado por el detector. Como se conoce la distancia a que se encuentra el espejo de referencia, se puede determinar la distancia a la que está la estructura de la retina que ha generado un reflejo que coincide con el reflejo que proviene del espejo de referencia. Se realiza una gráfica con las diferentes distancias recibidas por el fenómeno de interferencia y se obtiene una imagen en sentido axial (A-scan). El registro repetido de múltiples A-scan contiguos y su alineación apropiada permite construir una imagen bidimensional (la tomografía) [13].

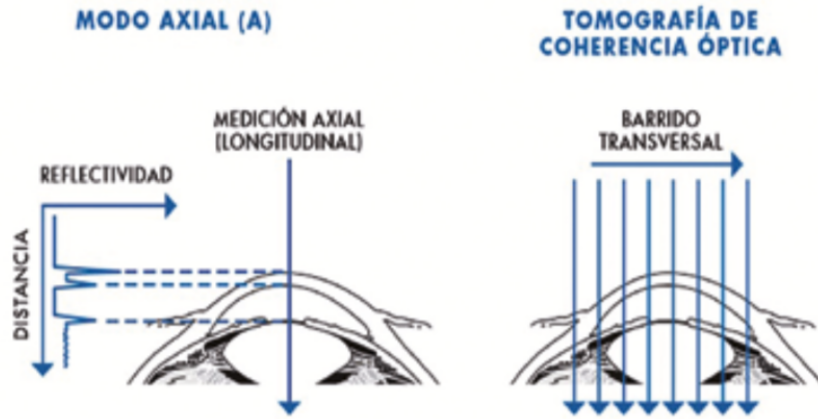


Figura 3.2: A la izquierda un escáner único en sentido axial y a la derecha el conjunto de varios A-scans formando una tomografía [13].

Para comprender la interferencia producida entre el haz de referencia y el haz que proviene de la muestra, se estudiará esta interferencia desde el punto de vista matemático [14,15]. En la Figura 3.1 se observan cuatro campos eléctricos diferentes: E_{in} , E_{out} , E_s y E_r . Estos campos eléctricos se corresponden con el campo producido por la fuente, el campo de salida, el campo procedente de la muestra y el campo procedente del espejo de referencia respectivamente.

El espejo de referencia tiene una reflectividad r_r y el divisor de haz tiene una reflectividad y una transmitividad (independiente de la longitud de onda) de $\sqrt{2}/2$, de modo que la intensidad se divide por igual entre el brazo de referencia y el brazo de la muestra. La muestra bajo medida se caracteriza por su perfil de reflectividad dependiente de la profundidad a lo largo del eje del haz de muestra $r_s(z_s)$, donde z_s es la longitud de trayectoria en la muestra. La reconstrucción de esta función z_s a partir de mediciones interferométricas es el objetivo de la interferometría de baja coherencia en el OCT. Por ahora, se asume que $r_s(z_s)$ es constante (de modo que solo se considera una reflexión de la muestra). En el siguiente apartado se estudiarán las reflexiones múltiples y la interacción de la luz con el tejido. A continuación, se expresa el campo eléctrico de forma armónica, es decir, de forma exponencial compleja [14,15].

$$E(t, \nu) = s(\nu)e^{-i(2\pi\nu t + kz)} \quad (3.1)$$

Esta es una solución plana polarizada para la ecuación de ondas, con un espectro de amplitud de campo $s(\nu)$ en función de la frecuencia ν . El segundo término en la exponencial hace referencia a la acumulación de fase en todo el interferómetro, en términos del vector de ondas k y la distancia de trayectoria óptica z en el interferómetro. Sin embargo, dado que la fase de entrada es arbitraria y el interferómetro mide solo la fase relativa entre las dos rutas ópticas, este término se descartará. Por lo tanto, los campos ópticos componentes en términos del campo de entrada para una determinada frecuencia ν son:

$$E_{in}(t) = s(\nu)e^{-i2\pi\nu t} \quad (3.2)$$

$$E_r(t - T_r) = \sqrt{2}/2 \cdot r_r E_{in}(t - T_r) \quad (3.3)$$

$$E_s(t - T_s) = \sqrt{2}/2 \cdot r_s E_{in}(t - T_s) \quad (3.4)$$

donde T_r y T_s son el tiempo empleado por la luz en recorrer el brazo de referencia y el brazo donde se encuentra la muestra respectivamente. Cambiando el origen del tiempo por T_r y definiendo la diferencia de tiempo entre las dos rutas como $\tau = T_r - T_s$, el campo de salida se puede escribir como:

$$\begin{aligned} E_{out}(\tau) &= \sqrt{2}/2 \cdot E_r(t - T_r) + \sqrt{2}/2 \cdot E_s(t - T_s) = 1/2 \cdot (r_r E_{in}(t - T_r) + r_s E_{in}(t - T_s)) \\ &= 1/2 \cdot (r_r E_{in}(t) + r_s E_{in}(t + \tau)) \end{aligned} \quad (3.5)$$

donde los factores $\sqrt{2}/2$ surgen del segundo viaje de los campos a través del divisor de haz. Debido a la rápida variación del campo, la intensidad detectada (potencia por unidad de área), I , viene dada por el promedio de tiempo del vector Poynting \mathbf{S} .

$$\begin{aligned} I_D(\tau) &= \langle |\mathbf{S}| \rangle = \varepsilon_0 c \langle E_{out}^2 \rangle = \frac{\varepsilon_0 c}{4} \langle (r_r E_{in}(t) + r_s E_{in}(t + \tau))^2 \rangle \\ &= \frac{\varepsilon_0 c}{4} (r_r^2 \langle E_{in}(t)^2 \rangle + r_s^2 \langle E_{in}(t + \tau)^2 \rangle + r_r r_s \langle E_{in}(t + \tau) E_{in}(t)^* \rangle + r_r r_s \langle E_{in}(t + \tau)^* E_{in}(t) \rangle) \end{aligned} \quad (3.6)$$

donde ε_0 es la permitividad en el vacío, c la velocidad de la luz y los brackets ($\langle \rangle$) denotan un promedio del tiempo. Se puede observar la importancia de la autocorrelación del campo de entrada en la determinación de la intensidad observada. A continuación, se definen nuevas magnitudes con el fin de reducir la expresión anterior.

$$I_0 = \langle E_{in}(t + \tau)^2 \rangle \approx \langle E_{in}(t)^2 \rangle \quad (3.7)$$

$$\Gamma(\tau) = \langle E_{in}(t + \tau) E_{in}(t)^* \rangle \quad (3.8)$$

La función $\Gamma(\tau)$, que es una medida de la correlación del campo, se conoce como la función de autocorrelación de la perturbación óptica. Teniendo en cuenta estas dos nuevas magnitudes, la intensidad observada se puede reescribir como:

$$\begin{aligned} I_D(\tau) &= \frac{\varepsilon_0 c}{4} (r_r^2 I_0 + r_s^2 I_0 + r_r r_s \Gamma(\tau) + r_r r_s \Gamma^*(\tau)) \\ &= \frac{\varepsilon_0 c}{4} (r_r^2 I_0 + r_s^2 I_0 + 2r_r r_s \text{Re}(\Gamma(\tau))) \end{aligned} \quad (3.9)$$

Por comodidad, se trabaja con la función de coherencia normalizada $\gamma(\tau)=\Gamma(\tau)/\Gamma(0)$ sabiendo que $\Gamma(0)=I_0$. Esta función normalizada determina el grado complejo de coherencia de la luz. En términos de esta cantidad, la intensidad del detector viene dada por:

$$\begin{aligned} I_D(\tau) &= \frac{\varepsilon_0 c}{4} (r_r^2 I_0 + r_s^2 I_0 + 2r_r r_s I_0 \text{Re}(\gamma(\tau))) \\ &= \frac{\varepsilon_0 c}{4} I_0 (r_r^2 + r_s^2 + 2r_r r_s \text{Re}(\gamma(\tau))) \end{aligned} \quad (3.10)$$

El grado complejo de coherencia de la luz $\gamma(\tau)$ se puede expresar en forma de exponencial compleja en función de la frecuencia central de la fuente $\bar{\nu}$ y del tiempo de diferencia entre los brazos del interferómetro τ .

$$\gamma(\tau) = |\gamma(\tau)| e^{-i(2\pi\bar{\nu}\tau - \alpha(\tau))} \quad (3.11)$$

donde la función $\alpha(\tau)=\text{Arg}(\gamma(\tau)) + 2\pi\bar{\nu}\tau$. Por lo que, la intensidad medida en el receptor I_D , en función de estas nuevas magnitudes es:

$$I_D = \frac{\varepsilon_0 c}{4} I_0 (r_r^2 + r_s^2 + 2r_r r_s |\gamma(\tau)| \cos(2\pi\bar{\nu}\tau - \alpha(\tau))) \quad (3.12)$$

Cuando la diferencia de tiempo entre los brazos se hace nula $\tau \approx 0$, se obtiene que $\gamma(\tau) \approx 1$ y $\alpha(\tau) \approx 0$. Suponiendo pérdidas iguales ($r_r = r_s = K$), el interferograma cerca del origen consistirá de un coseno, con intensidad variando de 0 a $\varepsilon_0 c K^2 I_0$ sobre un valor medio de $\varepsilon_0 c / 2K^2 I_0$. A medida que aumenta el retraso τ , el grado complejo de coherencia cae desde la unidad hacia cero, y además el interferograma puede sufrir una modulación de fase $\alpha(\tau)$, dependiente de la amplitud del espectro.

Se introduce ahora la visibilidad V que cuantifica el contraste de interferencia en cualquier sistema que tenga propiedades de onda. La visibilidad de un patrón sinusoidal tiene la siguiente fórmula empírica:

$$V = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (3.13)$$

donde I_{max} e I_{min} son la intensidad máxima y la intensidad mínima respectivamente que aparece en el patrón de interferencia. Esta visibilidad V se puede expresar en función del grado complejo de coherencia de luz a partir de la ecuación anterior y la ecuación (3.12).

$$V = \frac{2r_r r_s}{r_r^2 + r_s^2} |\gamma(\tau)| \quad (3.14)$$

que para pérdidas iguales ($r_r = r_s$) se simplifica a $|\gamma(\tau)|$. A medida que la diferencia de tiempo τ crece, la coherencia relativa de los dos haces disminuye y la visibilidad de las franjas disminuye también. Por lo que para observar con claridad la interferencia, la diferencia de tiempo τ debe ser aproximadamente cero. Este es el fenómeno físico en el que basa el OCT.

3.2. Muestra biológica en OCT

En la derivación de las expresiones anteriores, la muestra se trató como un espejo ideal. Se suponía que la propagación hacia la muestra y hacia atrás introducía un retraso de tiempo τ , pero que, por lo demás, no modificaba la amplitud ni la coherencia del haz de la muestra. En términos generales, ésta es una suposición poco realista. Sin embargo, se ha encontrado que los modelos basados en una versión modificada de esta suposición proporcionan una descripción satisfactoria de las imágenes de OCT en el ojo y otros tejidos transparentes [14,15]. En este caso especial, el campo reflejado por la muestra se puede expresar como:

$$E_s(t - T_s) = \sqrt{2}/2 \cdot r_s(T_s) \otimes E_{in}(t - T_s) \quad (3.15)$$

donde $r_s(T_s)$ es el perfil de reflectividad dependiente de la profundidad a lo largo de la muestra y donde \otimes representa la convolución. Este modelo de convolución simple se ha utilizado en varios estudios para medir las ubicaciones y las reflectividades de las capas de tejido [16].

En general, una muestra biológica está formada por varias capas. Para reflexiones nítidas en un medio homogéneo como es el ojo humano, puede ser una buena aproximación, asumir L reflexiones discretas. Se considera $l \in 1, 2, \dots, L$ donde l denota la capa de reflexión de la muestra, y L el número total de capas. Suponiendo una intensidad constante en toda la muestra, se obtiene:

$$E_s(t - T_1, t - T_2, \dots, t - T_L) = \sqrt{2}/2 \sum_{l=1}^L r_l E_{in}(t - T_l) \quad (3.16)$$

donde r_l es la reflectividad de la capa l de la muestra y T_l es el retraso en el tiempo que generan las reflexiones de las distintas capas con el brazo de referencia. Realizando los pasos del apartado anterior, la intensidad I_D obtenida en el detector obedece a la expresión:

$$I_D = \frac{\varepsilon_0 c}{4} I_0 (r_r^2 + \sum_{l=1}^L r_l^2 + \sum_{l=1}^L 2r_r r_l |\gamma(\tau_{r,l})| \cos(2\pi \bar{\nu} \tau_{r,l}) + \sum_{l \neq m=1}^L 2r_l r_m |\gamma(\tau_{l,m})| \cos(2\pi \bar{\nu} \tau_{l,m})) \quad (3.17)$$

donde $\tau_{r,l}$ es el retraso de tiempo entre el haz de referencia y el haz reflejado por la capa l y $\tau_{m,l}$, es el retraso de tiempo entre los haces reflejados por las capas l y m de la muestra. El resultado en la ecuación anterior incluye tres componentes distintos: un desplazamiento independiente del retraso (1º término), a menudo denominado componente DC. Este es el componente más grande si domina la reflectividad de referencia. Un componente de autocorrelación para cada capa de la muestra con el haz de referencia (2º término). Este es el componente deseado para la imagen OCT. Por último, los términos de autocorrelación que representan la interferencia que ocurre entre las distintas capas de la muestra (3º término).

La diferencia en el tiempo $\tau_{r,l}$ puede expresarse en función de la posiciones en las que se encuentran las distintas capas que forman el tejido y de la posición del espejo de referencia.

Para ello, se calcula en primer lugar, el tiempo t_l que tarda el haz en recorrer una de las capas l de la muestra. La Figura 3.3 muestra un esquema de las distintas capas que forman la muestra y sus correspondientes reflexiones.

$$t_l = \frac{2d_l}{v_l} = 2(z_{l+1} - z_l) \frac{n_l}{c} \quad (3.18)$$

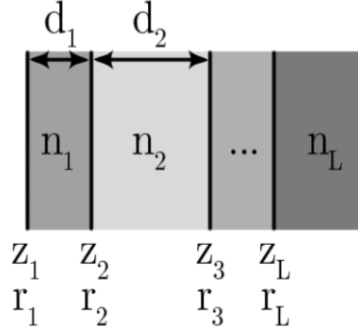


Figura 3.3: Modelo simple de un perfil de reflexión de muestra con L reflexiones distintas, donde z_l es la posición de la capa l , r_l es el coeficiente de reflexión de dicha capa y n_l y d_l su índice y su grosor respectivamente [14].

La ecuación anterior expresa el tiempo que tarda la luz en recorrer una determinada capa, pero para llegar a ésta, el haz debe pasar por las anteriores. Por lo que el tiempo empleado por la luz dentro de la muestra hasta recorrer la capa l es T_l :

$$T_l = \sum_{l=1}^{l-1} t_l \quad (3.19)$$

Considerando el tiempo que tarda la luz en llegar hasta llegar a la primera superficie de la muestra nula ($T_1=0$), la diferencia en el tiempo $\tau_{r,l}$ puede expresarse como la diferencia entre la ecuación anterior y el tiempo empleado en recorrer el brazo de referencia:

$$\tau_{r,l} = T_l - T_r = \frac{2}{c} \left(\sum_{l=1}^{l-1} (z_{l+1} - z_l) n_l - z_r \right) \quad (3.20)$$

donde z_r es la posición del espejo de referencia $n_{s,l}$ es el índice de refracción de la capa l del tejido a investigar.

Como se ha visto en el apartado anterior, la interferencia es visible cuando el tiempo de retraso $\tau_{r,l}$ es aproximadamente cero (ecuación 3.14). Según la ecuación 3.20, cuando esto ocurre, la posición del brazo de referencia coincide con el producto de las posiciones de los tejidos por sus correspondientes índices de refracción. Por lo que conociendo los correspondientes índices n_l y desplazando la posición del espejo z_r hasta observar interferencia en el detector, es posible determinar las posiciones de las capas dentro de la muestra.

A continuación, se muestra la simulación de interferencia correspondiente a un OCT para una muestra de ejemplo [14]. Esta muestra presenta tres capas distintas con unos índices de refracción $n_1=2$, $n_2=1$ y $n_3=2$, donde la distancia entre ellas es $z_2 = 10\mu\text{m}$ y $z_3=20\mu\text{m}$. Este interferograma permite analizar el perfil de reflectancia de dicha muestra.

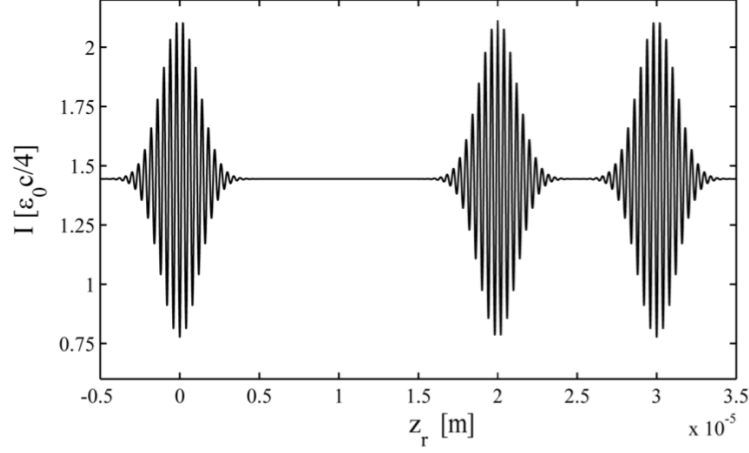


Figura 3.4: Simulación de interferencia correspondiente a un OCT para una muestra dada. Se representa la intensidad I de la interferencia en función de la posición del espejo de referencia z_r [14].

La intensidad resultante de la interferencia de cada una de las capas es proporcional a sus respectivos coeficientes de reflexión r . Esta reflexión se produce por el cambio de índice de refracción entre capa y capa, y puede obtenerse a través de las ecuaciones de Fresnel.

$$r = \frac{n_i \cos \theta_i - n_t \cos \theta_t}{n_i \cos \theta_i + n_t \cos \theta_t} \quad (3.21)$$

donde n_i y n_t son los índices de refracción del medio incidente y transmitido respectivamente, y θ_i y θ_t son los ángulos de incidencia y transmisión. La relación entre ambos ángulos puede obtenerse a través de la ley de Snell. En el caso de OCT, es necesario que se produzca incidencia normal sobre el tejido. De esta manera, la intensidad reflejada es mayor y es dirigida hacia el receptor.

Debe tenerse en cuenta que para la resolución numérica de la interferencia en OCT no se ha considerado la interacción luz-materia que sucede en el tejido. Cuando la luz se enfoca en el tejido, las inhomogeneidades en el índice de refracción provocan que se disperse en varios ángulos, y solo una fracción de esta luz regresa al detector. Este es el principal mecanismo de atenuación de la radiación sobre el tejido. Además, la profundidad máxima de penetración en el sistema está limitada por el coeficiente de dispersión y el ángulo de dispersión medio del tejido producido por el *scattering* de la luz en su interior. Los múltiples eventos de dispersión de la luz en la muestra biológica, provocarán un ruido característico con forma moteada en la tomografía denominado *speckle* [16].

3.3. Spectral domain - OCT

En las dos secciones anteriores, se ha explicado el OCT a partir del interferómetro de Michelson en el dominio del tiempo (TD-OCT.) Existen dispositivos OCT que trabajan en el espacio de Fourier, en concreto, el *spectral-domain* OCT (SD-OCT). La clave de trabajar en el dominio de Fourier es poder convertir posteriormente la señal cosinusoidal en deltas de Dirac. A continuación, se reescribe la ecuación de la intensidad recibida en el detector (ecuación 3.17) en el espacio de Fourier. Es decir, en función del vector de ondas k y de la intensidad de la fuente $S(k)$ para cada vector k [17].

$$I_{SD-OCT}(k) = S(k)(r_r^2 + \sum_{l=1}^L r_l^2 + \sum_{l=1}^L 2r_r r_l \cos(2k(z_r - z_l)) + \sum_{l \neq m=1}^L 2r_l r_m \cos(2k(z_l - z_m))) \quad (3.22)$$

La interferencia producida depende de la distancia entre el brazo de referencia y el brazo de muestra. ($z_r - z_l$). Esta diferencia de camino u *optical path difference* (OPD) será diferente para cada capa reflectora del ojo. Este efecto puede ser explotado por el análisis de Fourier que transforma la ecuación (3.22) directamente al dominio de profundidad $I_{SD-OCT}(z)$:

$$I_{SD-OCT}(z) = \mathcal{F}^{-1}\{I_{SD-OCT}(k)\} \quad (3.23)$$

$$I_{SD-OCT}(z) = \Gamma(z) \otimes (r_r^2 + \sum_{l=1}^L r_l^2 + \sum_{l=1}^L 2r_r r_l \cdot \delta(z \pm 2(z_r - z_l)) + \sum_{l \neq m=1}^L 2r_l r_m \cdot \delta(z \pm 2(z_l - z_m))) \quad (3.24)$$

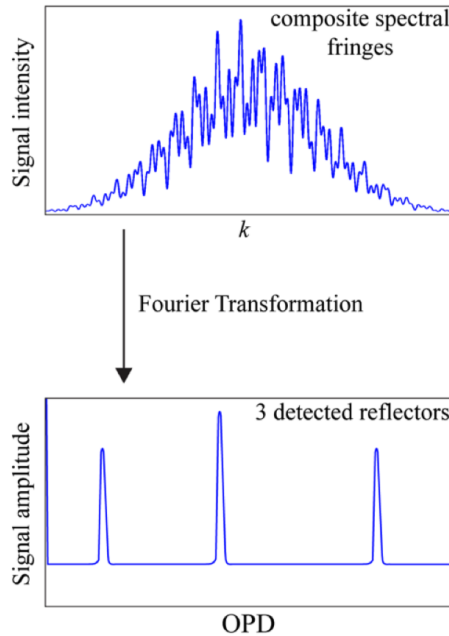


Figura 3.5: Un ejemplo de la detección de señal FD-OCT. La intensidad recibida en función del vector de onda y la transformada de Fourier inversa para obtener la posición de las capas reflectoras. Solo se muestra la mitad positiva del par de señales conjugadas complejas [17].

donde las capas reflectoras están modeladas por las funciones delta δ a una profundidad correspondiente a un OPD de $2(z_r - z_s)$, \otimes denota convolución y $\Gamma(z)$ representa la envolvente de la función de coherencia dada por la transformada de Fourier inversa de $S(k)$. Hay que darse cuenta de que la interferencia producida por cada capa reflectora resulta en pares de señales conjugadas para los OPD positivos y negativos. Este hecho se observa en el signo \pm que hay en el interior de la función delta en la ecuación 3.24. La amplitud de estas funciones delta es proporcional al coeficiente de reflexión del espejo de referencia r_r y de la determinada capa reflectora ocular r_l . En la Figura 3.5 se muestra un ejemplo de la obtención de la intensidad de la señal y de su correspondiente transformada de Fourier inversa para obtener el perfil de retrodispersión del ojo.

En SD-OCT, el fotodetector de la configuración TD-OCT se reemplaza por un espectrómetro. En su forma más simple, un espectrómetro utiliza una rejilla de difracción para la separación angular de las longitudes de onda y una lente para asignar cada longitud de onda a un píxel individual en la matriz lineal CCD. Una vez obtenida la intensidad para cada longitud de onda λ , se determina la intensidad en función del vector de ondas k . Finalmente se realiza la transformada de Fourier inversa para determinar el perfil de retrodispersión ocular. La principal diferencia con el TD-OCT es que el espejo de referencia queda inmóvil, lo que aporta mayor rapidez de escaneo al SD-OCT.

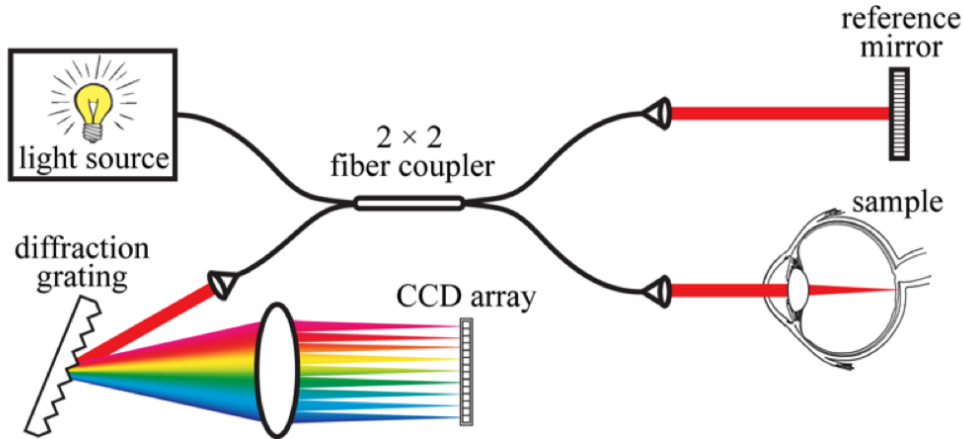


Figura 3.6: Esquema experimental del SD-OCT [17].

3.4. Origen del *speckle*

En el OCT, la muestra se coloca en uno de los brazos del interferómetro en el foco de una lente convergente. La interferencia producida entre la muestra y el brazo de referencia, es proporcional a la parte real del producto de correlación cruzada del campo óptico de referencia $E_{in}(t)$ y el campo óptico $E_{in}(t + \tau)$ retrodispersado de la muestra. Este término, ha sido definido anteriormente como la función de autocorrelación óptica $\Gamma(\tau)$ o la función de autocorrelación normalizada $\gamma(\tau)$. Finalmente, se recuerda que la intensidad recibida en el detector en el dominio del tiempo obedece a la siguiente ecuación:

$$I_D = \frac{\varepsilon_0 c}{4} I_0 (r_r^2 + r_s^2 + 2r_r r_s |\gamma(\tau)| \cos(2\pi \bar{\nu} \tau - \alpha(\tau))) \quad (3.25)$$

donde $|\gamma(\tau)|$ y $\alpha(\tau)$ son el argumento y la fase de la función de autocorrelencia. En el caso ideal de que la muestra se comportara como un reflector perfecto, la función de autocorrelación compleja de la fuente $|\gamma(\tau)|$ determinaría la fase $\alpha(\tau)$. Sin embargo, cuando la muestra es un tejido biológico que contiene partículas que se comportan como dispersores densamente empaquetados, tanto $|\gamma(\tau)|$ como $\alpha(\tau)$ ya no pueden tratarse como variables deterministas. Esto se debe a que las ondas de múltiples centros de dispersión se combinan aleatoriamente para formar la señal de interferencia [18].

Para un mejor entendimiento del fenómeno, se analizan los cambios que sufre una onda enfocada en el tejido a medida que se propaga a través de este hasta el volumen de la muestra. Primero se dispersa hacia adelante y luego se propaga nuevamente hacia atrás, a través del tejido hacia la lente (Figura 3.7). Los dos procesos principales que distorsionan el frente de onda de la onda de retorno: dispersión múltiple hacia adelante (*multiple forward scattering*) y dispersión múltiple hacia atrás (*multiple back scattering*) [3].

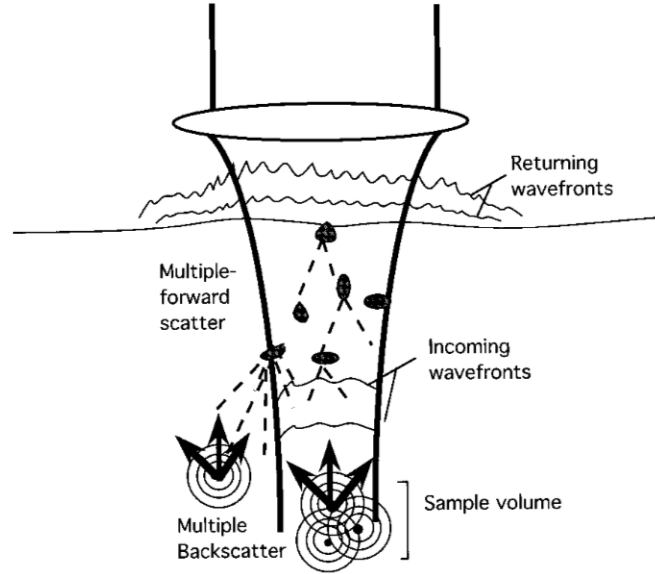


Figura 3.7: Distorsión del frente de ondas por los múltiples eventos de dispersión hacia adelante y hacia atrás [18].

La característica común de ambos procesos es que alteran la forma del frente de onda del haz de retorno y crean regiones localizadas de interferencia constructiva y destructiva que aparecen como manchas en las imágenes OCT. La retrodispersión múltiple puede ocurrir a pesar del corto tiempo de coherencia de las fuentes utilizadas en OCT. Las ondas retrodispersadas desde cualquier par de dispersores separados por una distancia óptica cercana a un múltiplo impar de la mitad de la longitud de onda pueden generar interferencia y por tanto

este moteado. Este fenómeno *speckle* se produce siempre y cuando la distancia óptica no exceda la longitud de coherencia de la fuente en el medio [18].

3.5. Modelos estadísticos del *speckle*

La literatura estadística contiene una gran cantidad de modelos probabilísticos que podrían aplicarse para ajustar el *speckle* producido por los tejidos biológicos presentes en el ojo humano. En este trabajo se han recogido aquellos modelos más comunes que se han utilizado para ajustar moteado de luz según las publicaciones [19,20,21,22]. Estas distribuciones son: Generalized Gamma (GG), Gamma (G), Weibull (Weib), Nakagami (Na), Rayleigh (Ray) y Rician (Ri). Para cada una de estas distribuciones se muestra a continuación la función de distribución de probabilidad (f) y la función de distribución acumulada (F). También se muestran el valor medio (E) y la desviación estándar (S) que cabe esperar de los puntos que obedezcan a dicha distribución.

3.5.1. Distribución Rayleigh

En la teoría de estadística, la distribución de Rayleigh es una distribución de probabilidad continua para variables aleatorias x de valor no negativo $[0, \infty)$. Presenta un único parámetro de ajuste σ [23].

$$f(x|\sigma) = \frac{x}{\sigma^2} e^{-x^2/(2\sigma^2)} \quad F(x|\sigma) = 1 - e^{-x^2/(2\sigma^2)} \quad (3.26)$$

$$E = \sigma \sqrt{\frac{\pi}{2}} \quad S = \sigma \sqrt{\frac{4 - \pi}{2}} \quad (3.27)$$

3.5.2. Distribución Rician

La distribución de Rician (o la distribución de Ricean) es la distribución de probabilidad de la magnitud de una variable aleatoria bivariada circular normal con una media potencialmente distinta de cero $[0, \infty)$. Presenta dos parámetros de ajuste: σ y ν [24].

$$f(x|\nu, \sigma) = \frac{x}{\sigma^2} e^{-(x^2 + \nu^2)/(2\sigma^2)} I_0\left(\frac{x\nu}{\sigma^2}\right) \quad F(x|\nu, \sigma) = 1 - Q_1\left(\frac{\nu}{\sigma}, \frac{x}{\sigma}\right) \quad (3.28)$$

$$E = \sigma \sqrt{\frac{\pi}{2}} L_{1/2}(-\nu^2/2\sigma^2) \quad S = \sqrt{2\sigma^2 + \nu^2 - \frac{\pi\sigma^2}{2} L_{1/2}^2\left(\frac{-\nu^2}{2\sigma^2}\right)} \quad (3.29)$$

donde I_0 es la función Bessel modificada del primer tipo con orden cero, Q_1 es la función Q-Marcum de primer orden y $L_{1/2}$ es el polinomio de Legendre de orden $1/2$.

3.5.3. Distribución Gamma

En estadística, la distribución Gamma es una distribución de probabilidad continua con dos parámetros de ajuste $k > 0$ y $\lambda > 0$ reales cuya función de densidad y su función acumulativa para valores $x > 0$ vienen dadas por [25]:

$$f(x|\lambda, k) = \lambda e^{-\lambda x} \frac{(\lambda x)^{k-1}}{\Gamma(k)} \quad F(x|\lambda, k) = \frac{\gamma(k, \lambda x)}{\Gamma(k)} \quad (3.30)$$

$$E = \frac{k}{\lambda} \quad S = \frac{\sqrt{k}}{\lambda} \quad (3.31)$$

donde Γ es la función gamma y γ es la función gamma incompleta.

3.5.4. Distribución Weibull

La distribución de Weibull es una distribución de probabilidad continua. Lleva el nombre del matemático sueco Waloddi Weibull, quien lo describió en detalle en 1951. Presenta dos parámetros de ajuste: λ y k [26].

$$f(x|\lambda, k) = \begin{cases} \frac{k}{\lambda} \left(\frac{x}{\lambda}\right)^{k-1} e^{-(x/\lambda)^k} & \text{si } x \geq 0 \\ 0 & \text{si } x < 0 \end{cases} \quad F(x|\lambda, k) = \begin{cases} 1 - e^{-(x/\lambda)^k} & \text{si } x \geq 0 \\ 0 & \text{si } x < 0 \end{cases} \quad (3.32)$$

$$E = \lambda \Gamma(1 + 1/k) \quad S = \lambda \sqrt{\Gamma(1 + 2/k) - (\Gamma(1 + 1/k))^2} \quad (3.33)$$

3.5.5. Distribución Nakagami

La distribución Nakagami es una distribución de probabilidad relacionada con la distribución gamma. La familia de distribuciones de Nakagami tiene dos parámetros: un parámetro de forma $m \geq 1/2$ y otro segundo parámetro que controla la expansión $\Omega \geq 0$ [27].

$$f(x|m, \Omega) = \frac{2m^m}{\Gamma(m)\Omega^m} x^{2m-1} e^{-\frac{m}{\Omega}x^2} \quad F(x|m, \Omega) = \frac{\gamma(m, \frac{m}{\Omega}x^2)}{\Gamma(m)} \quad (3.34)$$

$$E = \frac{\Gamma(m + \frac{1}{2})}{\Gamma(m)} \left(\frac{\Omega}{m}\right)^{1/2} \quad S = \sqrt{\Omega \left(1 - \frac{1}{m} \left(\frac{\Gamma(m + \frac{1}{2})}{\Gamma(m)}\right)^2\right)} \quad (3.35)$$

3.5.6. Distribución Generalized Gamma

La distribución gamma generalizada es una distribución de probabilidad continua con tres parámetros. Es una generalización de la distribución gamma de dos parámetros. Esta distribución presenta tres parámetros: a , p y d [28].

$$f(x|a, d, p) = \frac{p/a^d}{\Gamma(d/p)} x^{d-1} e^{-(x/a)^p} \quad F(x|a, d, p) = \frac{\gamma(d/p, (x/a)^p)}{\Gamma(d/p)} \quad (3.36)$$

$$E = a \frac{\Gamma((d+1)/p)}{\Gamma(d/p)} \quad S = a \sqrt{\frac{\Gamma((d+2)/p)}{\Gamma(d/p)} - \left(\frac{\Gamma((d+1)/p)}{\Gamma(d/p)}\right)^2} \quad (3.37)$$

3.6. El ojo

El ojo es un órgano que detecta la luz y es la base del sentido de la vista. Su función consiste básicamente en transformar la energía lumínica en señales eléctricas que son enviadas al cerebro a través del nervio óptico. Se trata de un sistema óptico formado por dos dioptrios aproximadamente esféricos y una lente, que reciben, respectivamente, el nombre de córnea y cristalino, y que son capaces de formar una imagen de los objetos sobre la superficie interna del ojo, en una zona denominada retina. En la retina, las células fotosensibles transforman la señal luminosa en impulsos eléctricos [29].

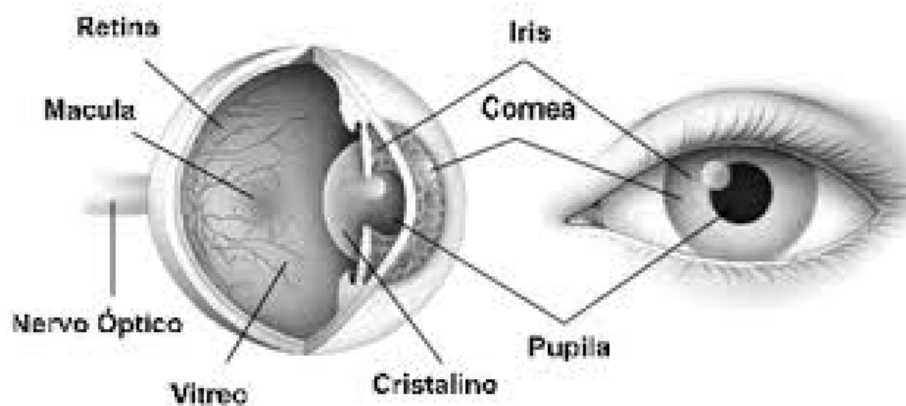


Figura 3.8: Esquema del ojo humano [29].

Tras la córnea hay un diafragma, el iris, que posee una abertura, la pupila, por la que pasa la luz hacia el interior del ojo. El iris es el que define el color de nuestros ojos y el que controla el diámetro de la pupila para regular la intensidad luminosa que recibe el ojo. El tamaño de la pupila puede variar entre 2 y 8 mm . Durante el día, al haber más cantidad de luz, posee un tamaño aproximado de 4 mm [29]. Por la noche, el tamaño de la pupila aumenta para intentar captar toda la luz posible.

El cristalino está unido por ligamentos al cuerpo ciliar. El cuerpo ciliar se encarga de regular la presión intraocular segregando el humor acuoso. Este cuerpo ciliar contiene un músculo encargado del proceso denominado de acomodación. En estado relajado, el ojo está preparado para enfocar objetos lejanos. Para poder enfocar objetos cercanos, el músculo ciliar se contrae produciendo un incremento de los radios y del grosor del cristalino, modificando así su potencia y consiguiendo formar la imagen en la retina. Este músculo ciliar divide al ojo en dos cámaras: la cámara posterior que contiene humor vítreo y la cámara anterior que contiene humor acuoso. La cámara anterior es la región comprendida entre la córnea y el cristalino, y la cámara posterior la región entre el cristalino y la retina.

En la retina se encuentran dos tipos de fotorreceptores: los conos y los bastones. Los bastones más numerosos y son más sensibles que los conos. Sin embargo, no son sensibles al color. Los conos proveen la sensibilidad al color del ojo y están más concentrados en la mancha amarilla

central conocida como mácula (Figura 3.8). En el centro de esa región está la fovea, libre de bastones y con una densa concentración de conos. Los conos se encargan de la visión diurna (visión fotópica) y los bastones de la visión nocturna (visión escotópica).

El ojo tiene tres capas de tejido diferentes alrededor de una cavidad central [30]. La más externa es la esclera (la capa blanca del ojo), y la más interna es la retina (tejido responsable de formar imágenes en el fondo del ojo). La capa media entre la esclera y la retina se llama úvea. La úvea contiene abundantes vasos sanguíneos que nutren la retina y otras estructuras del ojo.

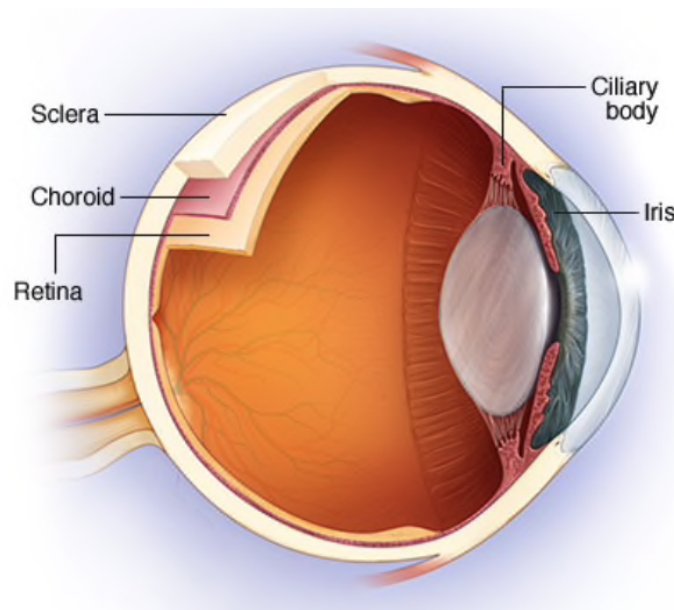


Figura 3.9: Esquema de la úvea [30].

La úvea consta de tres estructuras: el iris, el cuerpo ciliar y la coroides. La coroides es el revestimiento interior del ojo que se extiende desde el extremo de los músculos ciliares hasta el nervio óptico, localizado en la parte posterior del ojo. Se encarga de absorber la luz reflejada para que la imagen se proyecte nítidamente sobre la retina. La mayor parte de los vasos sanguíneos de la úvea se encuentran en la coroides.

3.7. Uveítis

La úvea es uno de los tejidos con más vasos sanguíneos del organismo, por eso presenta mayor sensibilidad a procesos infecciosos e inflamatorios [5]. La uveítis incluye un amplio grupo de respuestas inflamatorias que van desde entidades infecciosas a condiciones autoinmunes que pueden apuntar a una estructura ocular específica o involucrar al ojo entero. En concreto, la uveítis anterior (AU) se define como una afección inflamatoria ocular en la que la cámara anterior del ojo es el sitio primario de inflamación. La uveítis anterior suele cursar con dolor, enrojecimiento ocular y fotofobia.

La uveítis se considera idiopática en casi la mitad de los casos. Sin embargo, en la otra mitad su causa se puede diagnosticar. En cerca de una tercera parte de los pacientes, la uveítis se produce por una enfermedad reumática, entre las que se encuentran: artritis idiopática juvenil, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, artritis asociada a enteropatías, artritis reactiva, enfermedad de Behçet, algunas vasculitis sistémicas y sarcoidosis [31]. En el caso de que la uveítis se encuentre muy desarrollada, puede conllevar a la ceguera total del ojo afectado.

El proceso inflamatorio promueve cambios en el suministro de sangre, los componentes celulares y el ambiente químico. En concreto, la uveítis anterior produce agregados celulares que viajan por el humor acuoso de la cámara anterior. El número de agregados indica la severidad de la uveítis.

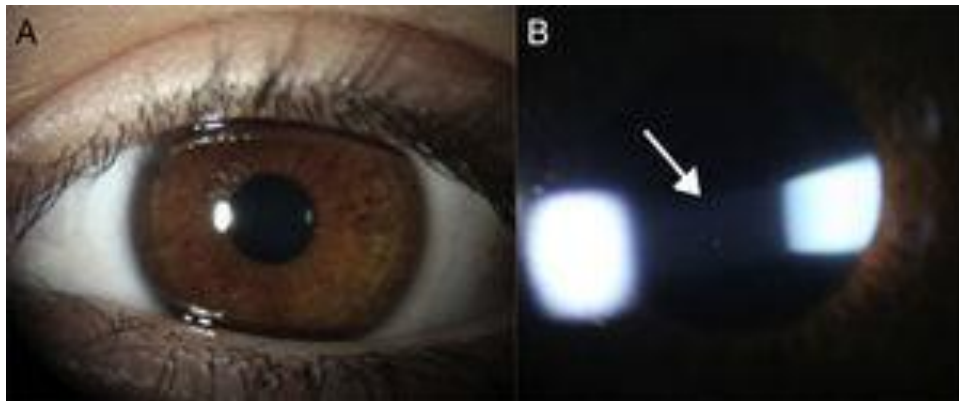


Figura 3.10: Paciente con uveítis sometido a la lámpara de hendidura [32].

El examen clásico para su conteo (*Tyndall*) se basa en proyectar desde la lámpara de hendidura un haz de luz de 1x1 mm a la córnea y cámara anterior (Figura 3.10) . Este haz se refleja primero en la córnea (1º punto) y después en la superficie anterior del cristalino (2º punto). Entre ambas reflexiones, la luz atraviesa la cámara anterior. Si el humor acuoso presenta agregados, entre entre ambas reflexiones es posible observar pequeños puntos hiper-reflectantes en la pupila. El número de células visibles son contabilizadas de manera visual por el oftalmólogo y se gradúan en una escala de 0 a 4 [32,33]:

- 0: No hay presencia de agregados
- 0.5 : 1-5 agregados
- 1 : 6-15 agregados
- 2: 16-25 agregados
- 3: 26-50 agregados
- 4: + 50 agregados

Esta técnica *Tyndall* está sujeta a la valoración personal por parte del examinador, y resulta tener un carácter muy subjetivo y de difícil cuantificación pues las células flotantes se encuentran en constante movimiento. Además, este examen no puede realizarse en presencia de edema en la cornea debido a la opacidad que produce.

La tomografía de coherencia óptica permite caracterizar y visualizar estos agregados de una manera más cuantitativa. Los oftalmólogos realizan el conteo directamente en la tomografía a través de la segmentación manual. Sin embargo, el ruido moteado *speckle* dificulta el conteo de estos agregados de forma directa. Este ruido será más o menos notorio en función de la señal-ruido que presente la tomografía. La variación de la señal-ruido se produce debido al cambio de sensibilidad necesario para una correcta visualización del tejido en cada paciente.

A continuación, se muestra un ejemplo de segmentación manual en una tomografía correspondiente a un paciente con uveítis. En esta segmentación solo se consideran agregados aquellos píxeles que pueden observarse a simple vista, a pesar de la dificultad que puede haber a veces para diferenciarlo del *speckle*. Los píxeles considerados agregados han sido redondeados manualmente por círculos de color verde.

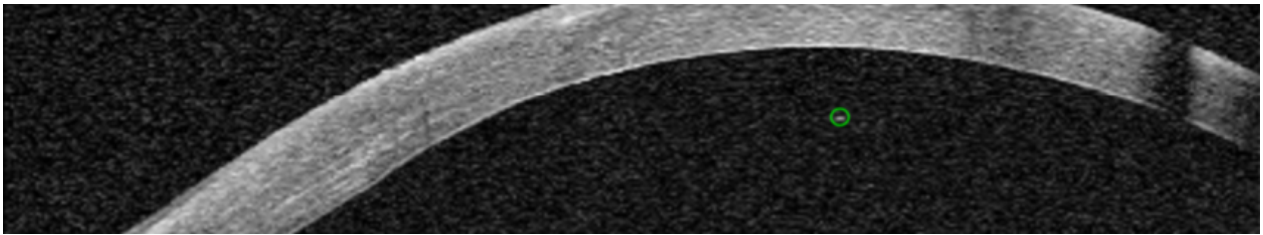


Figura 3.11: Tomografía ocular de 1200×224 píxeles correspondiente al ojo patológico del paciente 7. En ella se muestra la segmentación manual de 1 agregado.

Capítulo 4

Materiales y Método

En capítulo se enuncian las características de las muestras analizadas, del equipo OCT empleado y la descripción paso a paso del algoritmo propuesto para la segmentación de agregados celulares en tomografías correspondientes a pacientes con uveítis.

4.1. Muestras de los pacientes y equipo OCT

Las imágenes analizadas son tomografías de coherencia óptica que se han obtenido en el Servicio de Oftalmología del Hospital Marqués de Valdecilla (HUMV) en el marco del proyecto de investigación DAPATOO (INNVAL 18/23). Las imágenes se toman correspondiendo con la práctica clínica convencional, contando con la autorización del CEIC (Comité de Ética de Investigación Clínica) de Cantabria (código 2019.010). Se han analizado muestras de 25 pacientes con uveítis. En estas tomografías se muestra la cámara anterior del sujeto. Además, se han analizado también 8 muestras correspondientes a los ojos sanos de algunos de los pacientes que servirán como ojos control.

Las medidas OCT se han obtenido con el equipo Spectralis OCT (Heidelberg Engineering Co., Heidelberg, Germany). El Heidelberg Spectralis OCT tiene una longitud de onda de trabajo de 870 nm, una profundidad de exploración de 1,9 mm, una resolución axial y transversal de 7 y 14 micras respectivamente, y con una velocidad de barrido de 40.000 cortes axiales por segundo. El Spectralis es un sistema multi-modal que ofrece oftalmoscopio láser cofocal de barrido (CSLO) y un SD-OCT con un sistema de fijación ocular láser [34].

4.2. Algoritmo propuesto

En esta sección, se describe paso a paso el algoritmo propuesto para segmentar los agregados celulares en ojos con uveítis. Hasta ahora, el conteo se realiza de una manera manual, es decir, solo se consideran aquellos agregados cuyos píxeles puedan diferenciarse a simple vista. Por ello, la importancia de un método que sea capaz de cuantificar los agregados.

El primer paso del algoritmo es seleccionar dos regiones dentro de la tomografía (Figura 4.1). La región I se corresponde con la selección rectangular fuera de la córnea. En esta región aparece el ruido moteado característico del *speckle*. La región II se corresponde con la selección rectangular en el interior de la cámara anterior. En esta región, aparece el ruido moteado producido por el *speckle* y los agregados celulares que se encuentran vagando por el humor acuoso. Es importante que ambas regiones sean lo más grandes posible sin tocar la córnea.

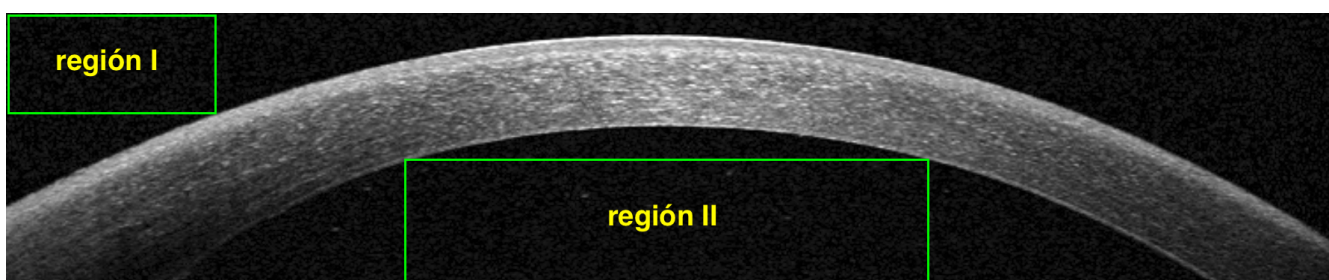


Figura 4.1: Tomografía de paciente con uveítis el que dos regiones (I y II) han sido seleccionadas.

El siguiente paso, es analizar el valor medio y la desviación estándar de la intensidad de los píxeles presentes en la región I y II. Para calcular ambas magnitudes, se debe considerar una determinada matriz de vecindad. Es decir, el número de píxeles que se van a considerar alrededor de cada pixel para calcular tanto el valor medio como la desviación estándar. Las matrices de vecindad consideradas en este algoritmo han sido: 3×3 , 5×5 , 7×7 y 9×9 . A continuación, se representan la desviación estándar frente al valor medio para cada región (I y II) y para cada una de las matrices de vecindad anteriores. A partir de ahora, la región I será considerada como "Sin agregados" y la región II como "Con Agregados". Estas representaciones aparecen en la Figura 4.2, donde los puntos de color rojo se corresponden con los píxeles que presentan mínimos en la desviación estándar.

Los puntos de color rojo son los puntos de interés. Los píxeles que presenten un mínimo en la desviación estándar se debe a que la intensidad en toda la matriz de vecindad es de valor similar. Este hecho ocurrirá en los píxeles asociados a los agregados celulares que se encuentran en la cámara anterior. Estos agregados presentarán una desviación estándar mínima y un valor alto de intensidad media. Por tanto, únicamente se consideran estos puntos de interés y se desprecia el resto. A continuación, estos puntos se ordenan de menor a mayor para observar el rango de valores (media, desviación estándar) que toma tanto la región sin agregados como con agregados. En la Figura 4.3, se ha representado el valor medio frente a la desviación estándar de estos puntos de interés ordenados para ambas regiones. Este proceso se ha repetido para cada una de las matrices de vecindad.

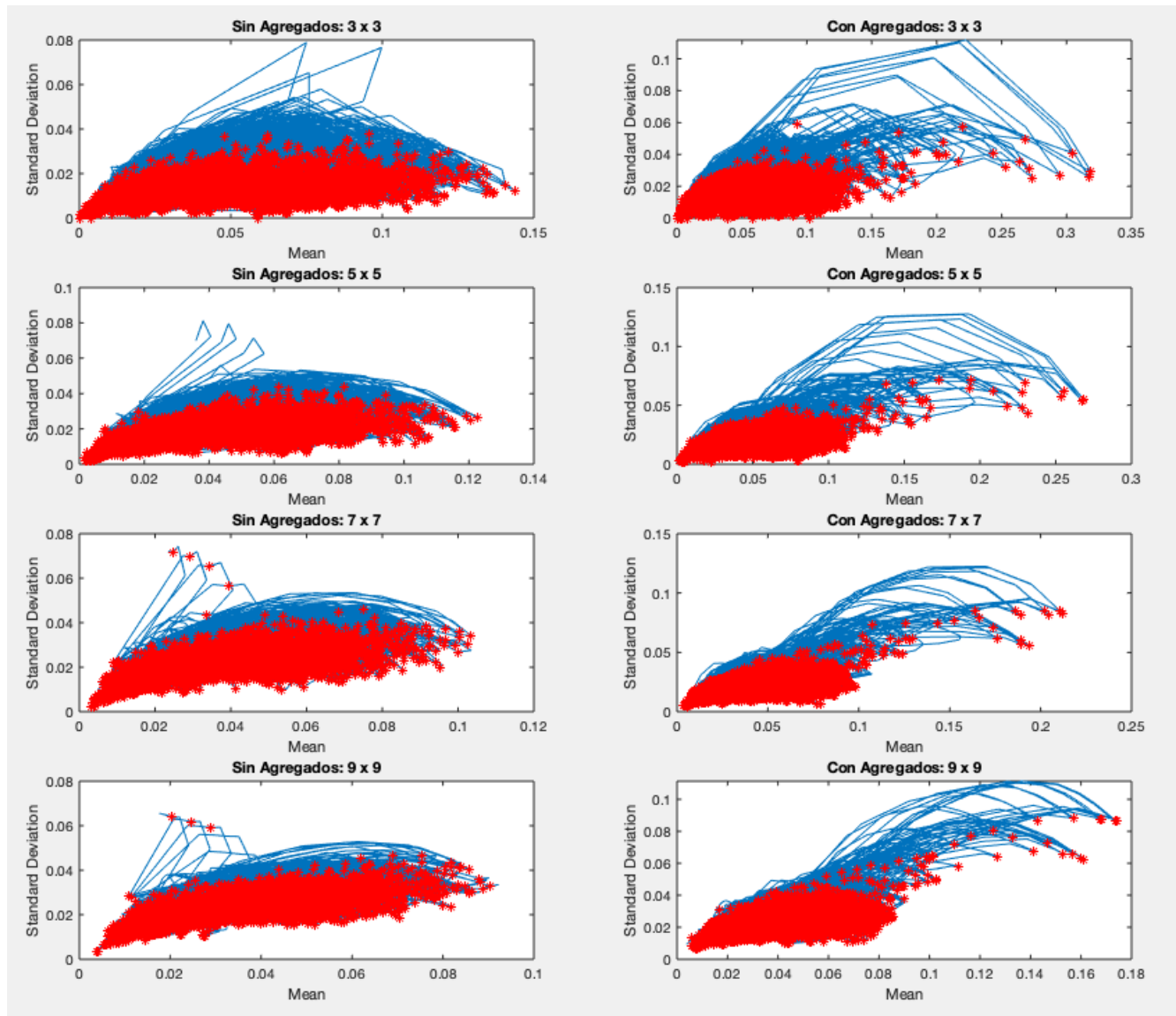


Figura 4.2: Desviación estándar frente al valor medio para la región sin agregados (1º columna) y para la región con agregados (2º columna). Además, este par de magnitudes han sido determinadas variando la matriz de vecindad: 3×3 (1º fila), 5×5 (2º fila), 7×7 (3º fila) y 9×9 (4º fila). Los puntos de color rojo se corresponden con los píxeles que presentan mínimos en la desviación estándar.

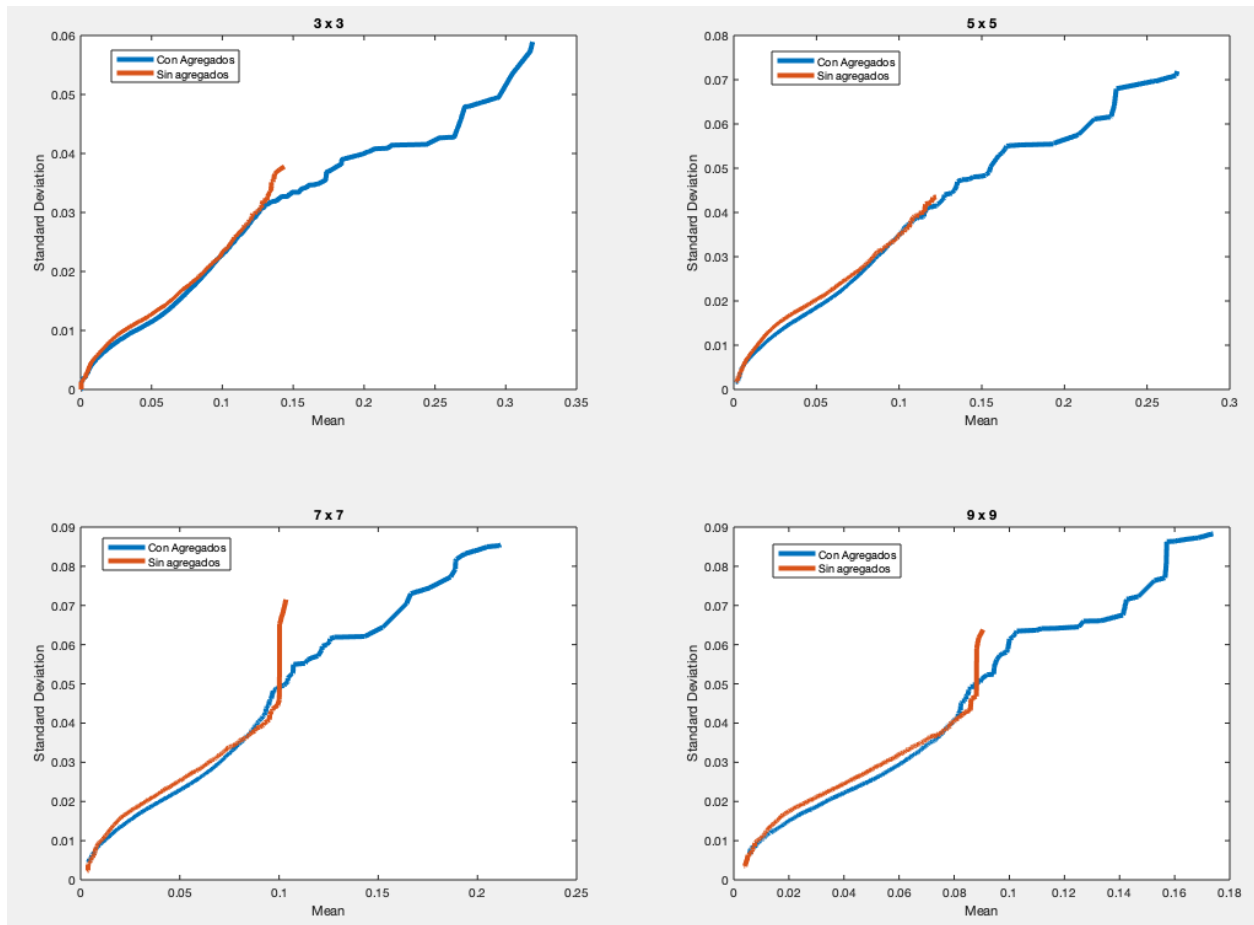


Figura 4.3: Desviación estándar frente al valor medio de los píxeles de interés ordenados presentes en la región con agregados (azul) y la región sin agregados (rojos). Ambas magnitudes han sido determinadas variando la matriz de vecindad: 3×3 (Sup. Izq.) , 5×5 (Sup. Dcha), 7×7 (Inf. Izq). y 9×9 (Inf. Dcha.)

Se puede observar que las curvas media-desviación estándar de ambas regiones solapan hasta un punto, a partir del cual la región con agregados comienza a presentar valores más altos (Figura 4.3). A este punto se le llamará punto de umbralización. Esto se debe a que el ruido moteado de speckle presenta una determinada distribución matemática. Esta distribución delimita el valor medio y la desviación estándar. Por lo que aquellos puntos que solapan se corresponderán con píxeles asociados al ruido speckle, y aquellos que no con píxeles asociados a las células flotantes.

A continuación, se elige la matriz de vecindad en el que más claro se observe el punto de umbralización. En este ejemplo, se escoge la matriz de 5×5 . En esta representación se observa cómo ambas curvas solapan a la perfección y a partir de un punto, la región con agregados celulares comienza a presentar valores más altos. La matriz de vecindad óptima dependerá del tamaño de los agregados y del moteado speckle. Como es un dato desconocido a priori, el algoritmo presenta estas 4 propuestas de matriz. Por teclado se escribe el tamaño de la matriz

deseada, y a través del puntero se señala el punto de umbralización escogido. A continuación, se presenta el punto de umbralización escogido (X) en este caso.

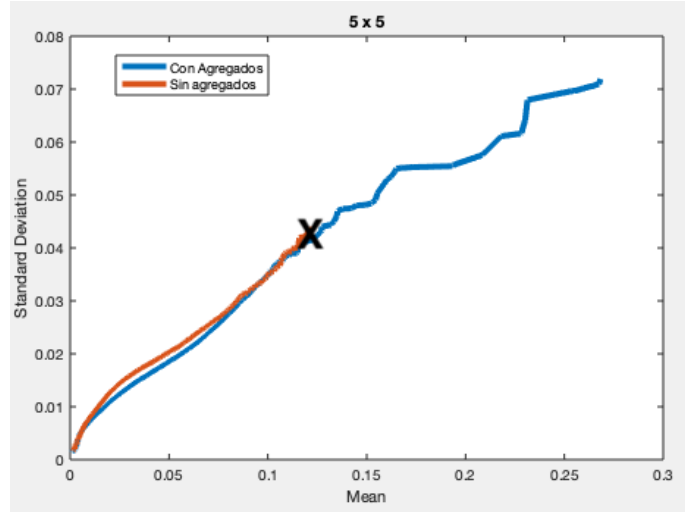


Figura 4.4: Desviación estándar frente al valor medio de los píxeles de interés ordenados presentes en la región con agregados (azul) y la región sin agregados (rojo) para la matriz de vecindad 5×5 . El punto X muestra el punto de umbralización escogido.

Finalmente, el último paso consiste en binarizar la tomografía. Todos aquellos píxeles que presenten una desviación estándar o un valor medio menor que el punto de umbralización será nulo (ceros lógicos). En caso contrario, será igual a la unidad (unos lógicos). El resultado final es la segmentación de estos agregados que se encuentran en la cámara anterior. La segmentación de estos agregados pueden observarse en la siguiente imagen.

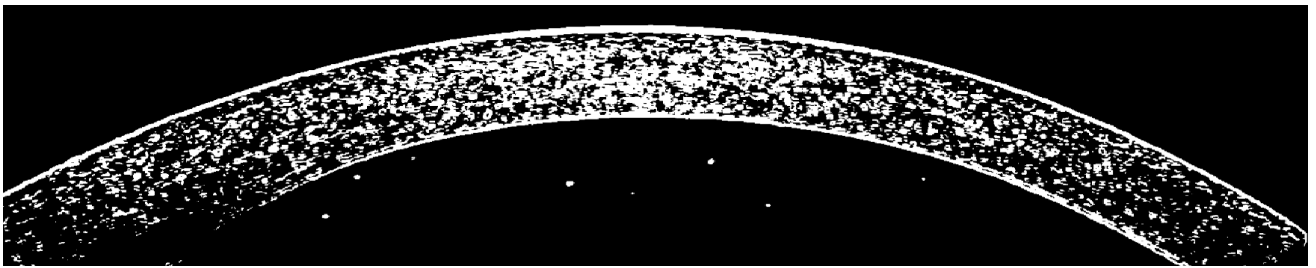


Figura 4.5: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto. Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 2 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1788×368 píxeles.

Este algoritmo recoge todo este proceso de una manera pseudo-automatizada en el entorno MATLAB. Este código se adjunta en el siguiente link acompañado de una tomografía para poder comprobar la segmentación de los agregados celulares. En la Figura 4.6 se muestra un diagrama de bloques con los pasos en los que se basa el algoritmo propuesto.

https://www.dropbox.com/sh/ybqogug10yliwgd/AAB-RQJz0ao36sRnkSI_0-Qha?dl=0

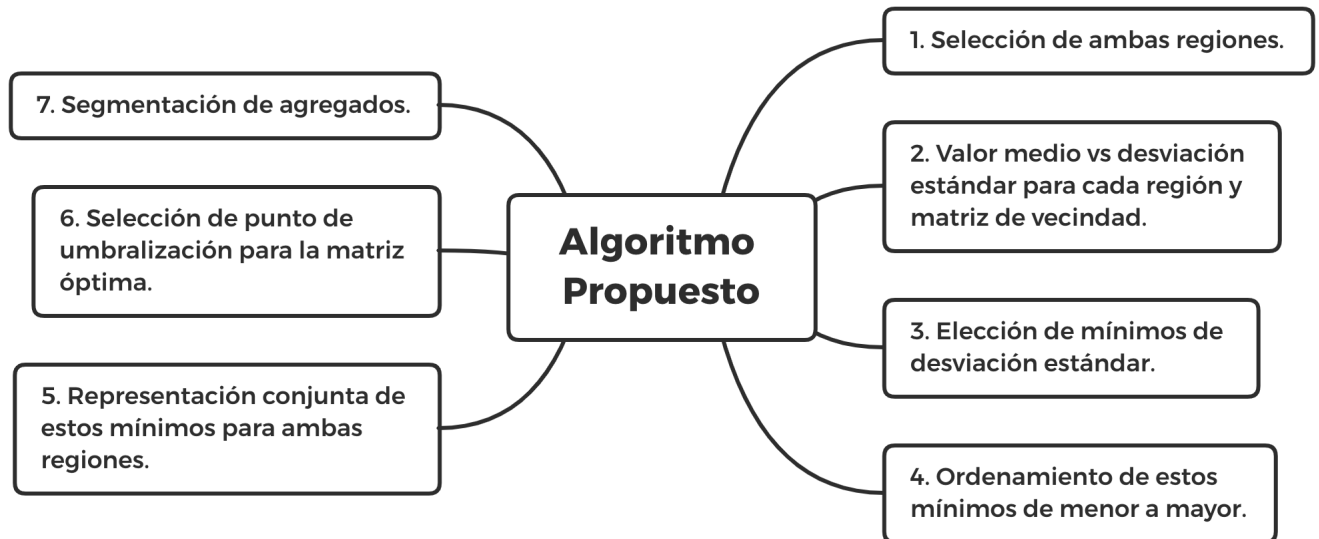


Figura 4.6: Diagrama de bloques con los pasos en los que se basa el algoritmo propuesto.

Capítulo 5

Resultados

En este capítulo se analizará qué modelo matemático describe mejor la distribución del *speckle*, la segmentación de los agregados celulares por el algoritmo propuesto en ojos con uveítis y la aplicación de este algoritmo en tomografías oculares en ojos control (sanos).

Para el primer caso, se ha seleccionado una región de la tomografía donde aparezca el ruido *speckle*. El histograma de esta región se ha ajustado a los distintos modelos matemáticos que según la teoría mejor describen mejor este fenómeno: Rayleigh, Rician, Gamma, Weibull, Nakagami y Generalized Gamma.

Para el segundo caso, se muestran las tomografías de los 25 pacientes con la segmentación de los agregados obtenidas a través del método propuesto. La segmentación de estos agregados será comparada con la segmentación manual que realizan los oftalmólogos para caracterizar la uveítis.

Para el tercer caso, se aplica el algoritmo a 8 tomografías oculares en ojos control. Se muestran las representaciones valor medio contra desviación estándar para observar qué sucede con el punto de umbralización en ojos sin agregados.

5.1. Modelo estadístico del *speckle*

El histograma es una representación gráfica de la distribución de probabilidad de una determinada variable, como puede ser los niveles de grises o tonos de una imagen. Estos tonos se corresponden con los distintos valores de intensidad que presentan los píxeles. Dichos valores se encuentran entre 0 (negro) y 1 (blanco). Entre ambos puntos, se encuentran diferentes tonalidades de grises. Cuantos más bits presente la imagen, mayor variedad de grises pueden representarse. En este caso, las tomografías analizadas se corresponden con imágenes de 8 bits, es decir, 256 tonos diferentes de grises.

Desde el punto de vista matemático, el histograma de una imagen puede ser entendido como la función de densidad de probabilidad (pdf). La diferencia entre ambas reside en que el histograma es una representación discreta y la pdf es una representación continua. Por lo que

en realidad, la función de densidad de probabilidad es la envolvente del histograma.

De esta manera, el histograma de una imagen con moteado *speckle*, puede ser comparada con las funciones de densidad de probabilidad de los modelos que teóricamente mejor funcionan. Además, para una mayor rigurosidad, se comparan también las funciones de distribución acumulada (cdf). Esta función es similar a la pdf, con la diferencia de que va acumulando el área encerrada bajo la curva para cada valor de la intensidad. En el caso de la imagen, la función de distribución acumulada es calculada a partir de la suma del área encerrada por cada una de las barras que forman el histograma.

En la Figura 5.1 se muestra la región seleccionada con el ruido moteado característico del *speckle* en una zona libre de agregados celulares. En la Figura 5.2 se representa el correspondiente histograma ajustado a las pdf de los distintos modelos matemáticos enumerados en la sección 3.4. Finalmente en la Figura 5.3 se representa la cdf de la imagen, ajustada también a los distintos modelos teóricos.

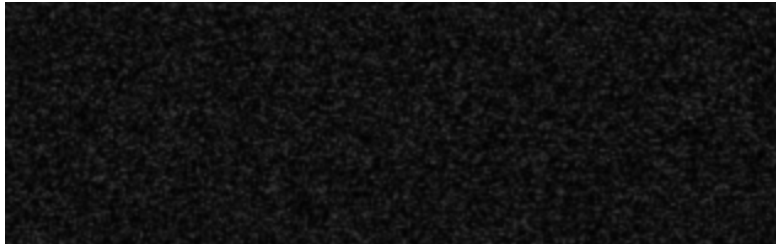


Figura 5.1: Región de tomografía con ruido moteado característico del *speckle*.

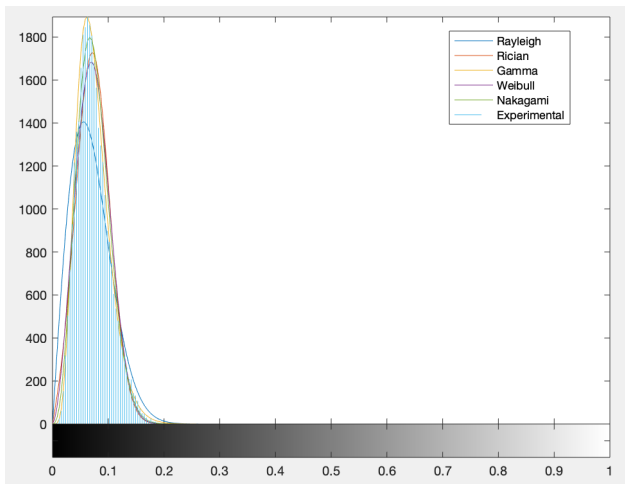


Figura 5.2: Histograma de la región de tomografía con ruido característico *speckle*. Este histograma ha sido ajustado a las pdf de los modelos matemáticos: Rayleigh (azul), Rician (naranja), Gamma (amarillo), Weibull (violeta) y Nakagami (verde).

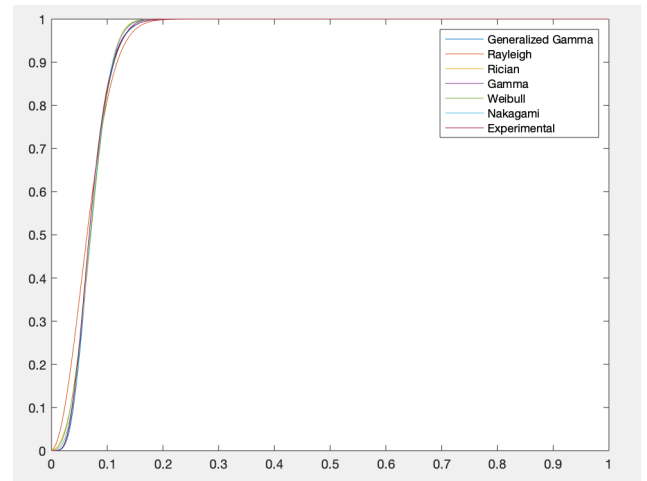


Figura 5.3: Cdf de la región de tomografía con ruido característico *speckle*. Esta cdf ha sido ajustada a la de los modelos matemáticos: Generalized Gamma (azul osc.), Rayleigh (naranja), Rician (amarillo), Gamma (violeta), Weibull (verde), Nakagami (azul cl.) y la experimental (rojo).

A simple vista parece que todos los modelos matemáticos describen de manera razonable el *speckle*. Para concluir cuál de ellos describe este fenómeno de una manera óptima se recurre al test de Kolmogorov-Smirnov [19]. Se trata de una prueba no paramétrica que determina la bondad de ajuste de dos distribuciones de probabilidad entre sí. Se basa en medir la distancia máxima que existe entre la curva teórica y la curva experimental. Aquella curva teórica que presente una menor distancia máxima con la cdf experimental (Figura 5.3), será la que mejor se ajuste y por tanto, la que mejor describa el *speckle*. En la Figura 5.4 se representa el resultado de este test.

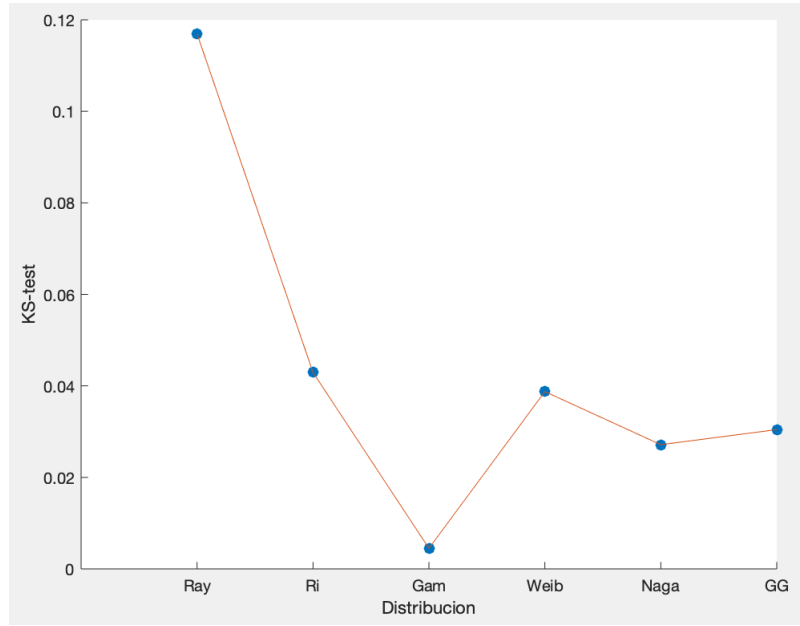


Figura 5.4: Se muestra la distancia máxima entre la cdf experimental de la impagen con la cdf de las correspondientes curvas teóricas: Rayleigh (Ra), Rician (Ri), Gamma (Gam), Weibull (Weib), Nakagami (Na) y Generalized Gamma (GG).

Se obtiene que el modelo matemático que mejor describe el comportamiento del *speckle* es la función Gamma. Esta conclusión se corrobora con la de otras publicaciones [35,36].

El hecho de que el *speckle* esté regido por una determinada distribución, servirá para distinguir este ruido de los agregados celulares que se encuentran en la cámara anterior. La distribución delimita el valor medio y la desviación estándar. En este caso, el valor medio y la desviación estándar vienen dados por la distribución Gamma (ecuación 3.31). Si se comparan estas dos magnitudes, en una región fuera de la córnea y en una región en el interior de la cámara anterior, aquellos puntos que solapen se corresponderán con píxeles asociados al ruido *speckle*, y aquellos que no con píxeles asociados a los agregados.

5.2. Segmentación de agregados celulares en ojos con uveítis

En esta sección se mostrará la segmentación de los agregados celulares que se encuentran en la cámara anterior a través del método propuesto. En el apéndice, se muestran las representaciones media contra desviación estándar para observar el punto de umbralización escogido en cada caso. La matriz de vecindad (3×3 , 5×5 , 7×7 o 9×9) para determinar ambas magnitudes, ha sido elegida en función de en cuál de ellas se observa mejor el punto de umbralización. Este algoritmo ha sido empleado en tomografías de coherencia óptica en 25 pacientes con uveítis. Se compara con la segmentación manual, que es método que realizan los oftalmólogos para el conteo de estos agregados sobre la tomografía. Esta segmentación manual puede resultar algo tediosa cuando la señal-ruido es muy baja, y no del todo eficaz pues únicamente se segmentan los agregados que se puedan distinguir a simple vista. Al final de esta sección, se muestra una tabla con el conteo de estas células obtenidas a través de ambos métodos para cada paciente.

En la parte superior izquierda de cada tomografía analizada aparece el número correspondiente a cada paciente (1-25). En la parte superior derecha, la matriz de vecindad empleada en cada caso. Los agregados celulares detectados aparecen rodeados de forma manual por circunferencias en color verde para facilitar su conteo y observar la diferencia entre la segmentación manual y el algoritmo propuesto. La segmentación manual ha sido por realizada por mí para poder simular la segmentación manual realizada por los oftalmólogos.

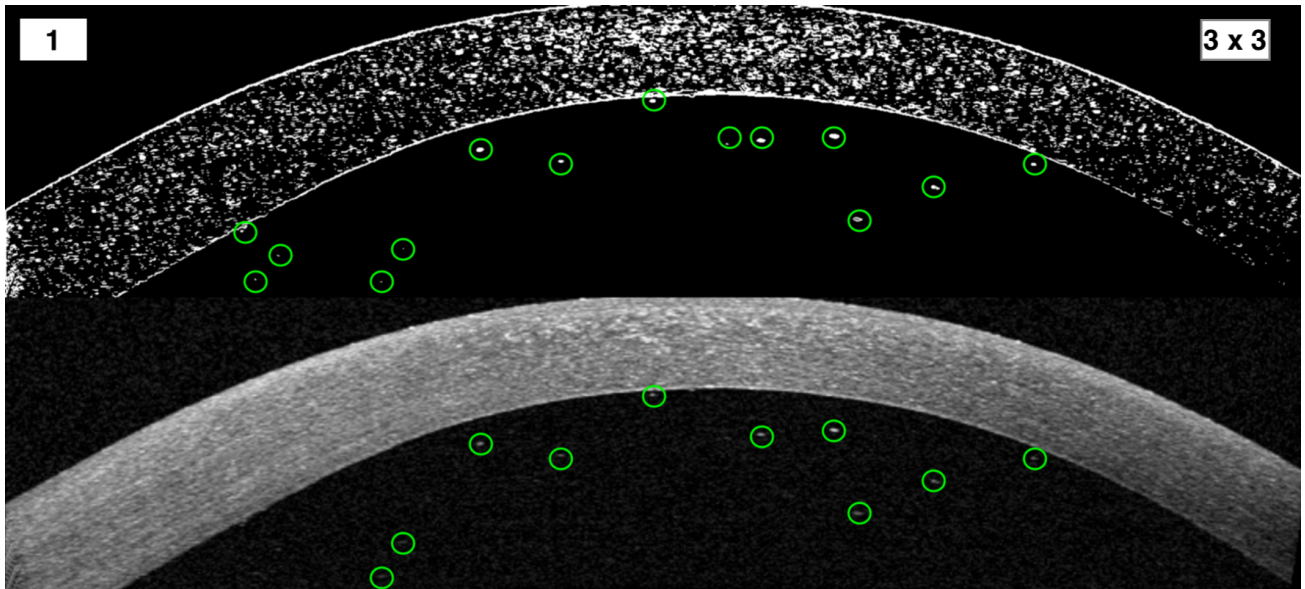


Figura 5.5: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 1 empleando una matriz de vecindad 3×3 sobre una tomografía de 1922×422 píxeles.

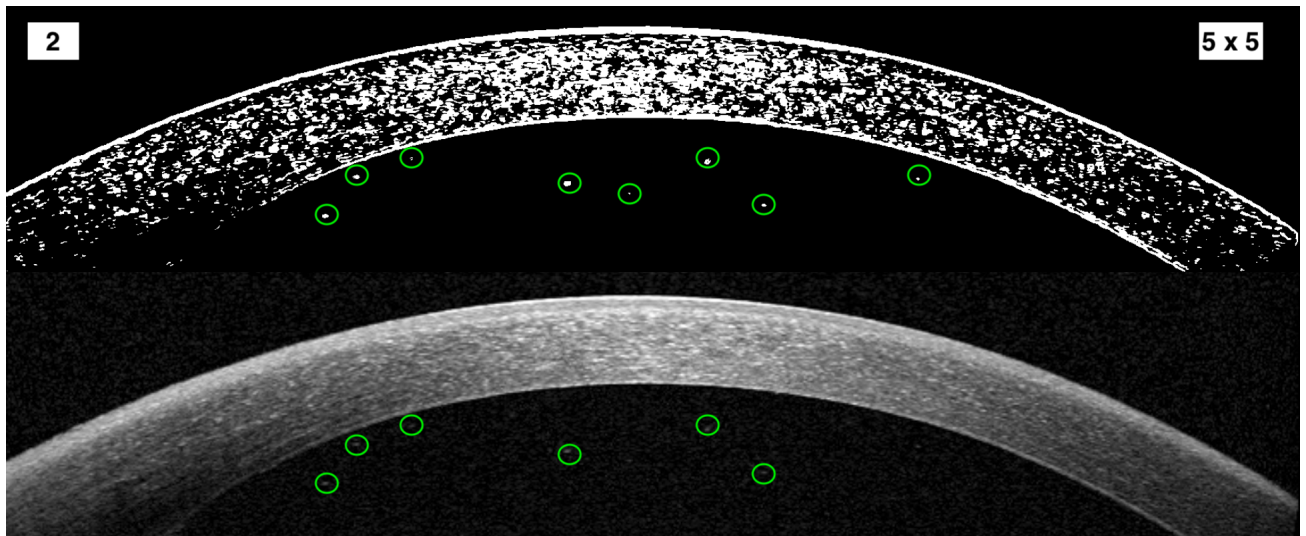


Figura 5.6: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 2 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1788×368 píxeles.

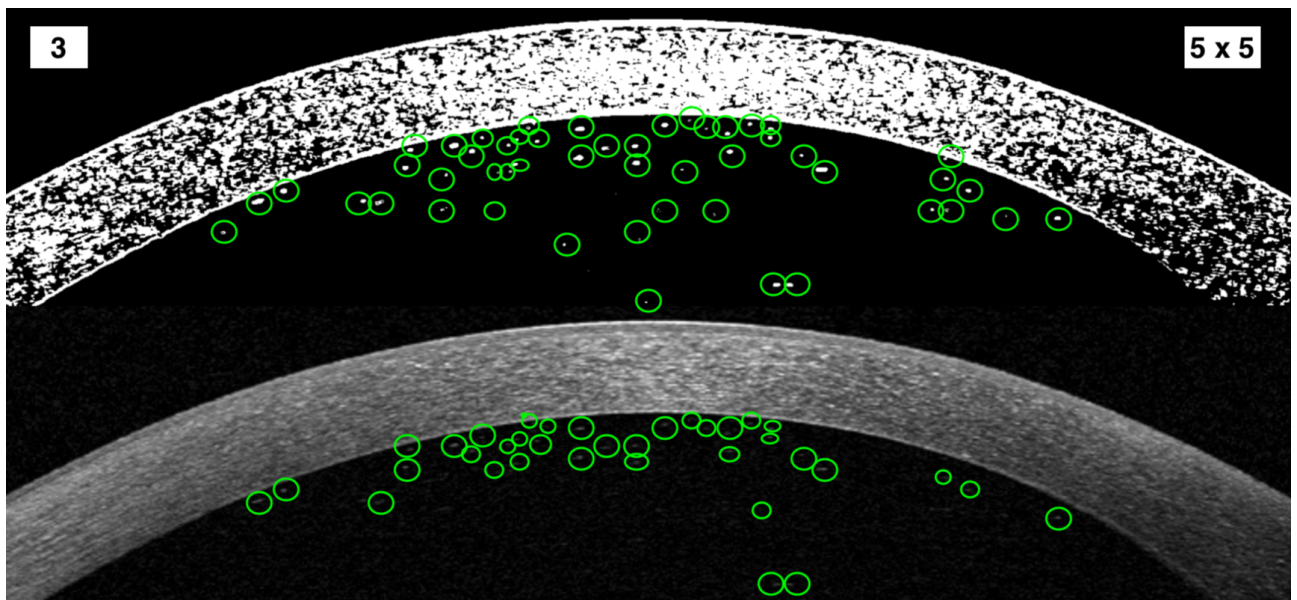


Figura 5.7: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 3 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1768×436 píxeles.

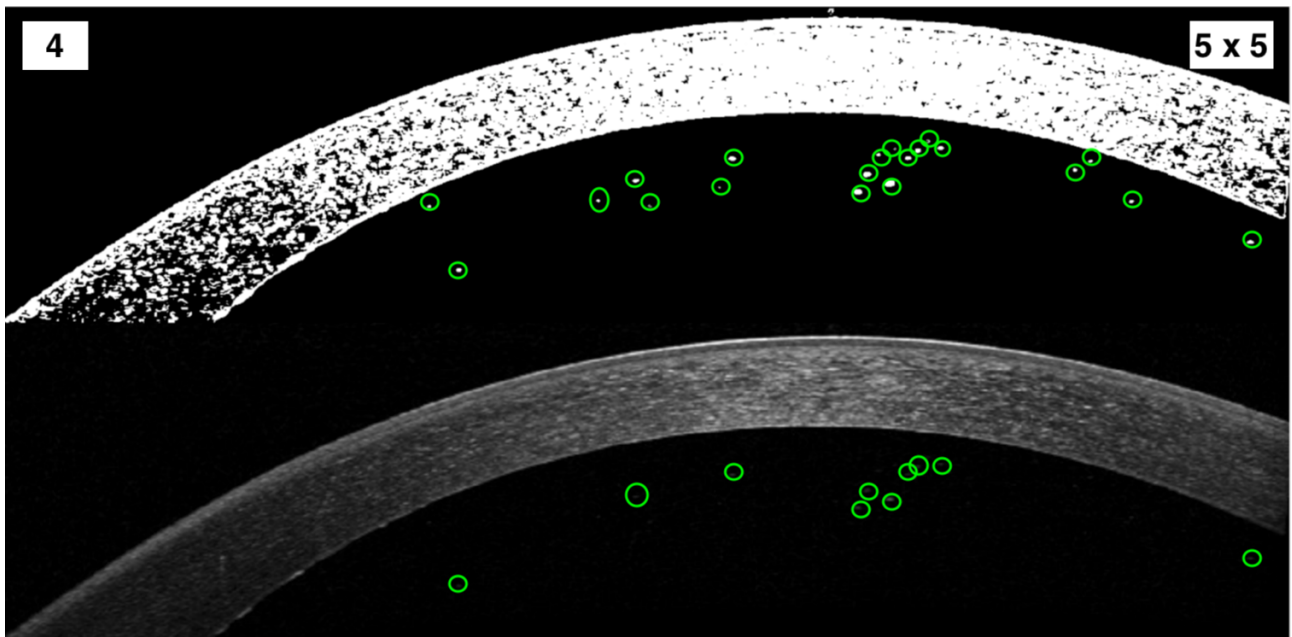


Figura 5.8: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 4 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1764×434 píxeles.

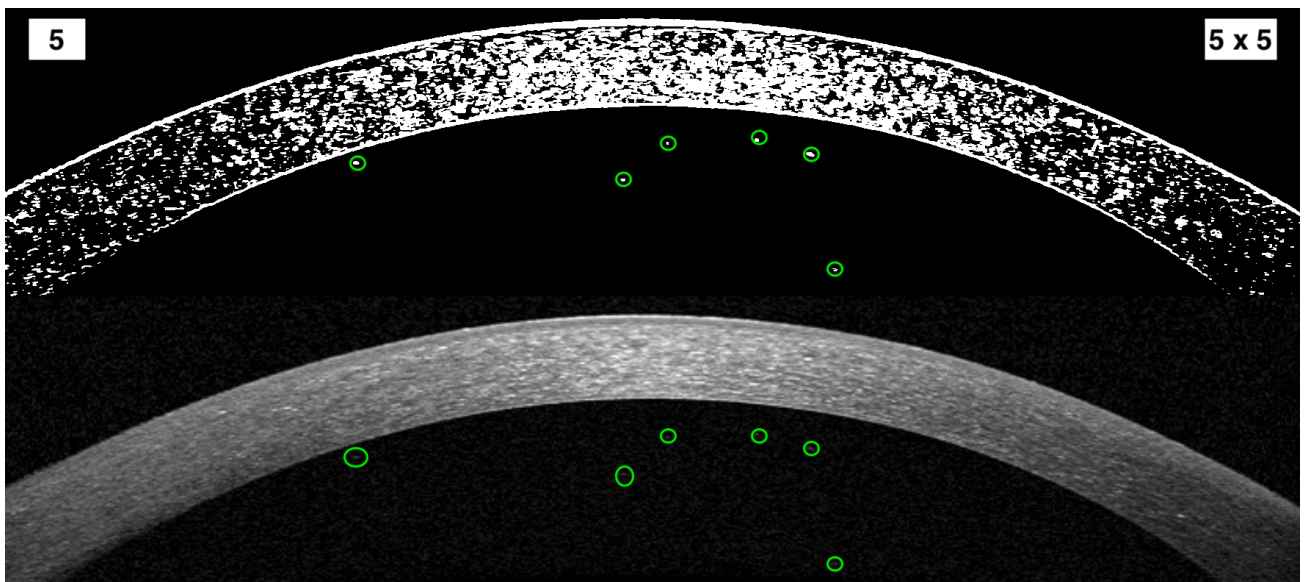


Figura 5.9: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 5 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1746×440 píxeles.

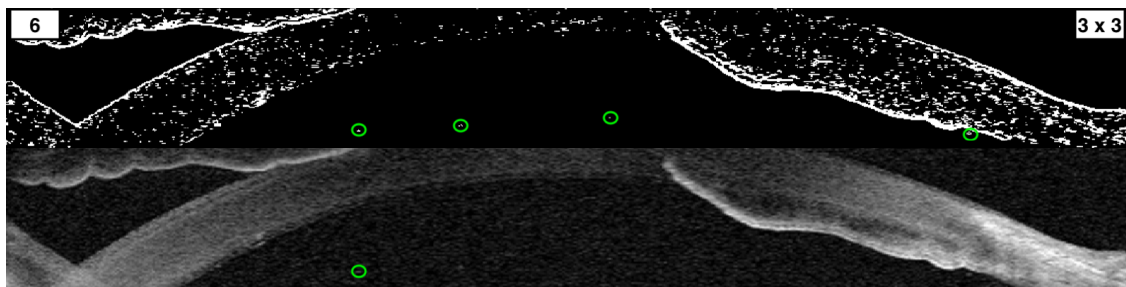


Figura 5.10: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 6 empleando una matriz de vecindad 3×3 sobre una tomografía de 1308×148 píxeles.

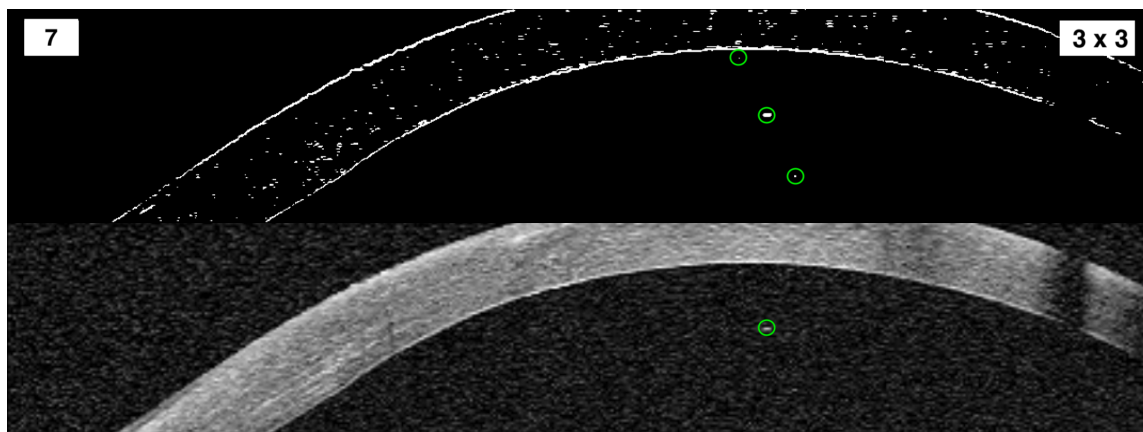


Figura 5.11: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 7 empleando una matriz de vecindad 3×3 sobre una tomografía de 1200×224 píxeles.

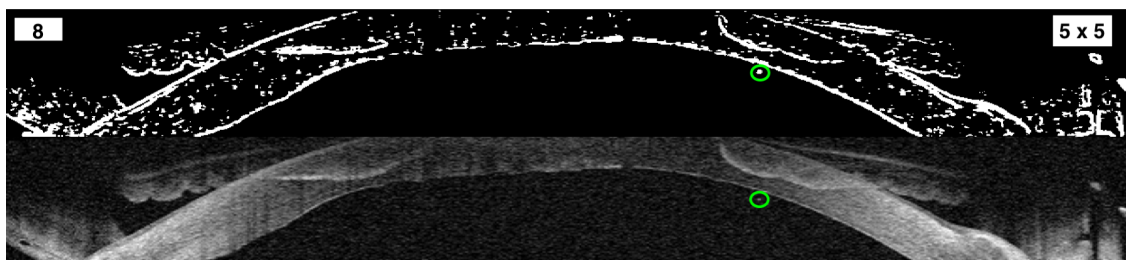


Figura 5.12: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 8 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1308×148 píxeles.

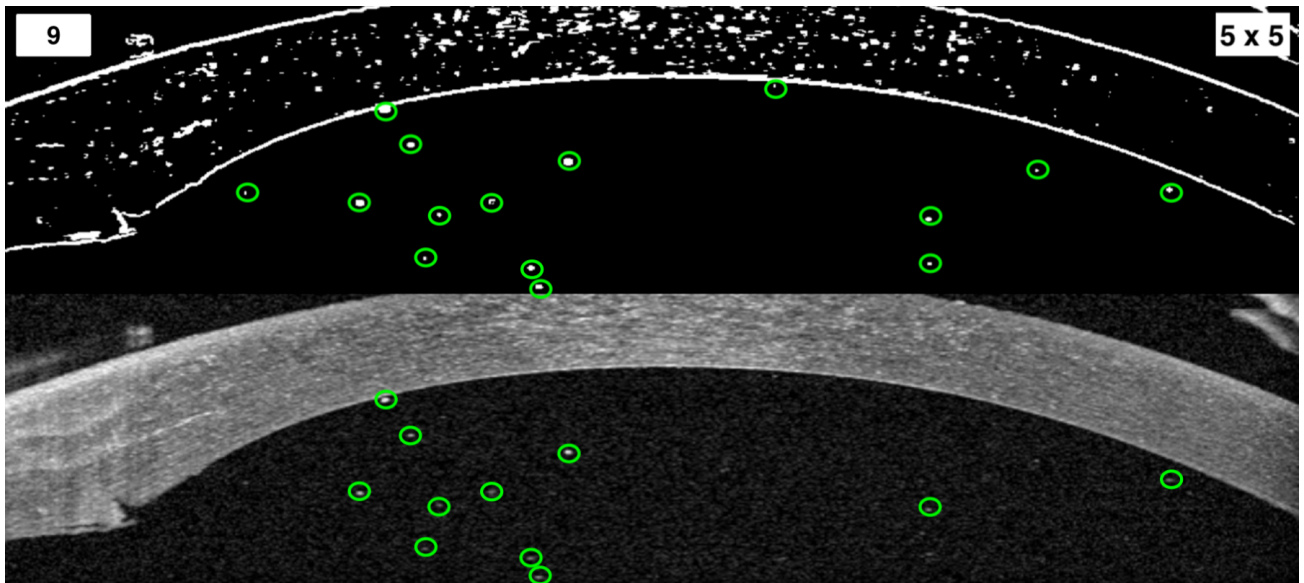


Figura 5.13: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 9 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1211×171 píxeles.

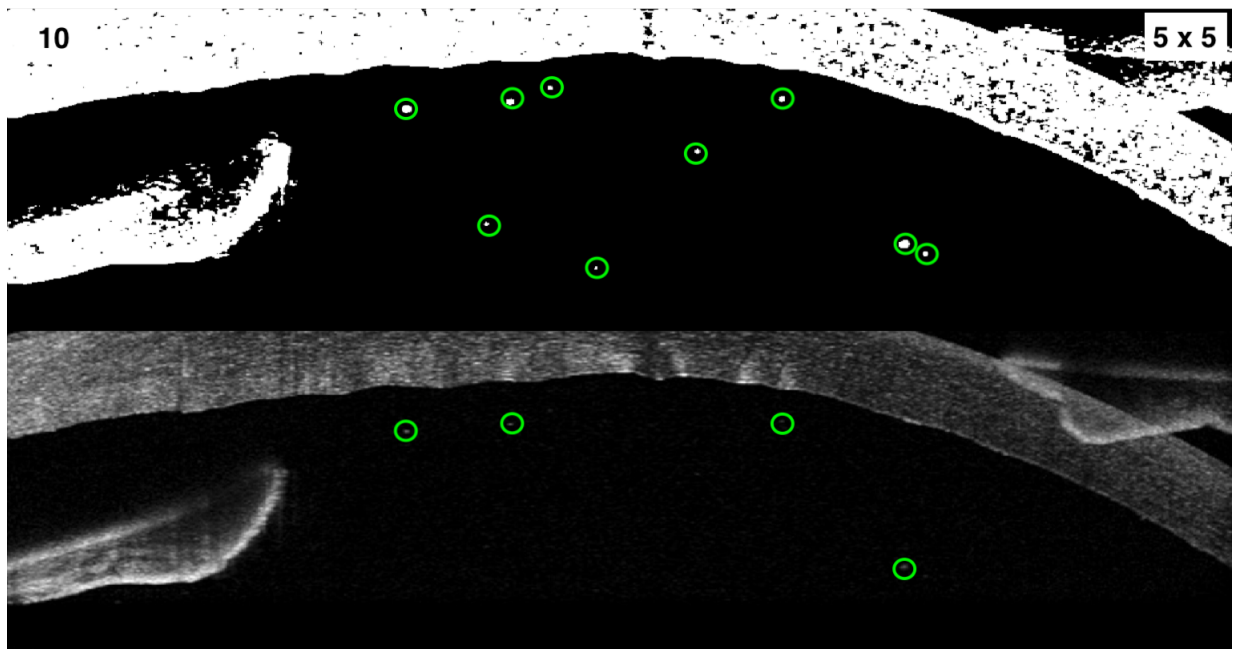


Figura 5.14: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 10 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1209×318 píxeles.

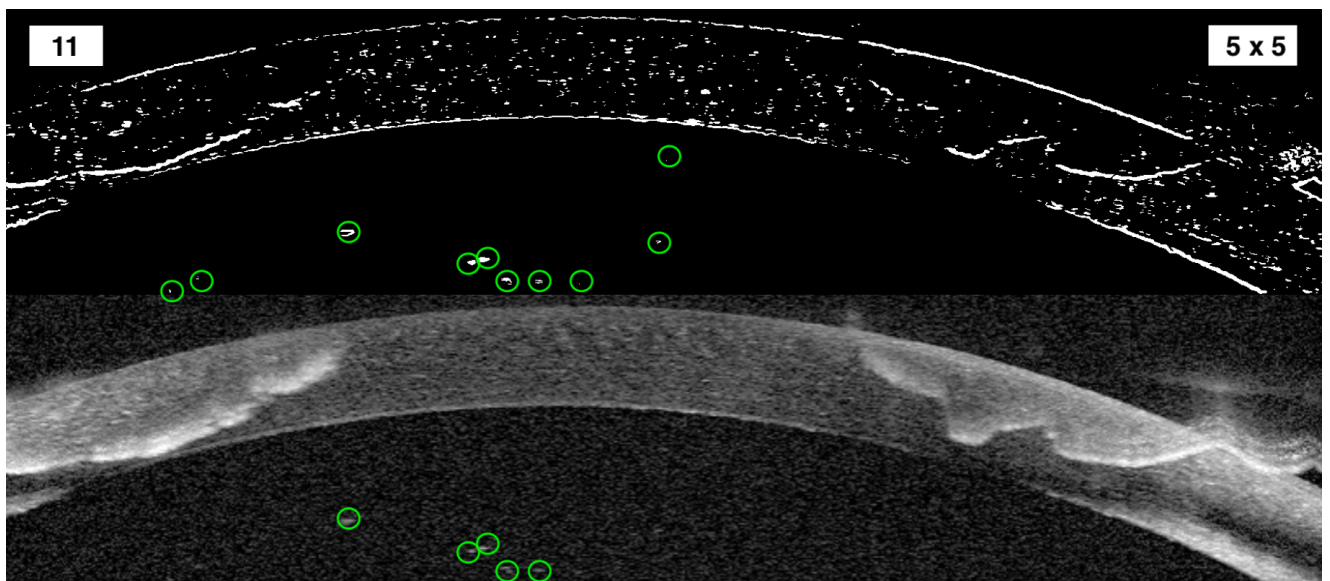


Figura 5.15: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 11 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1784×390 píxeles.

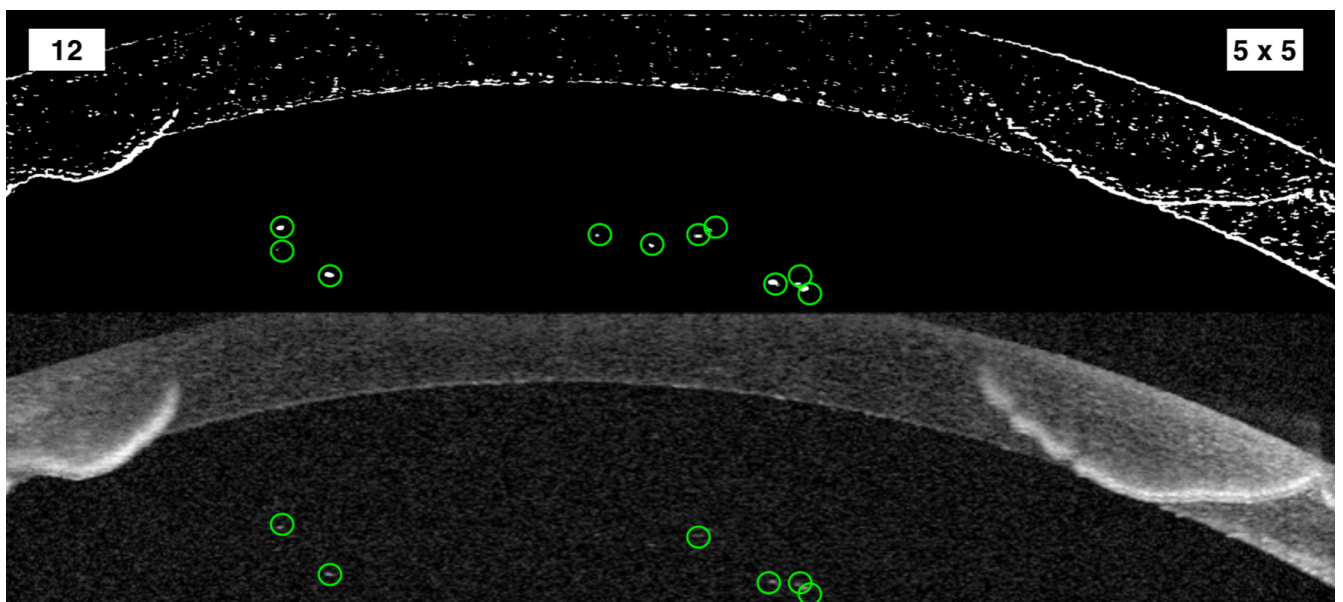


Figura 5.16: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 12 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1784×400 píxeles.

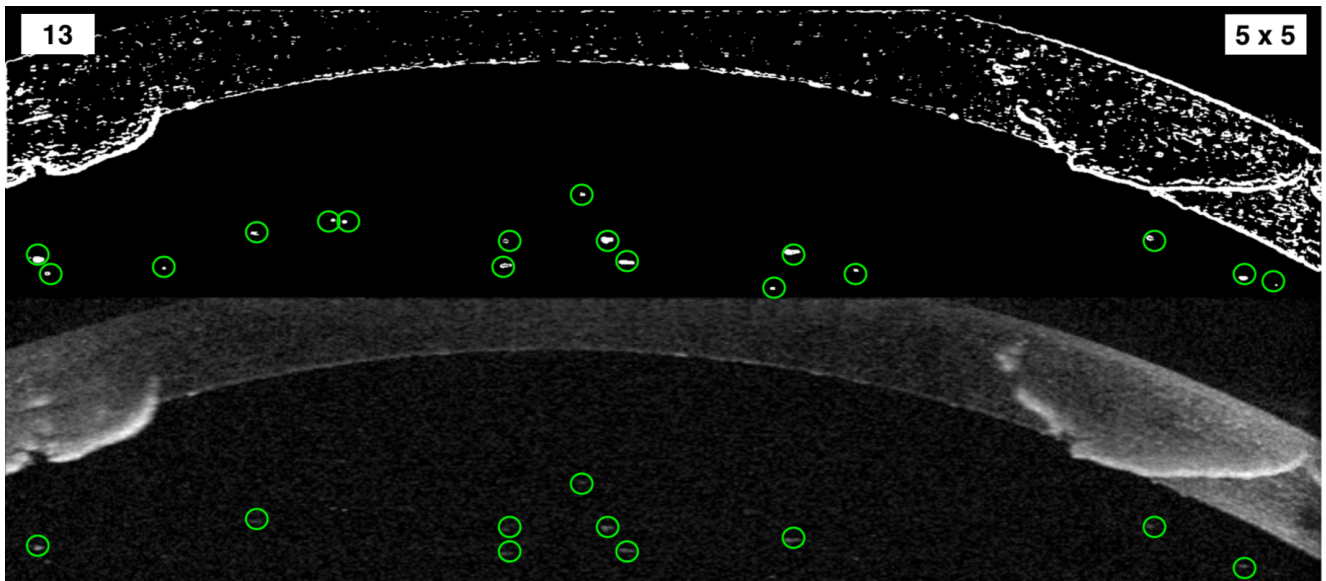


Figura 5.17: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 13 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1812×396 píxeles.

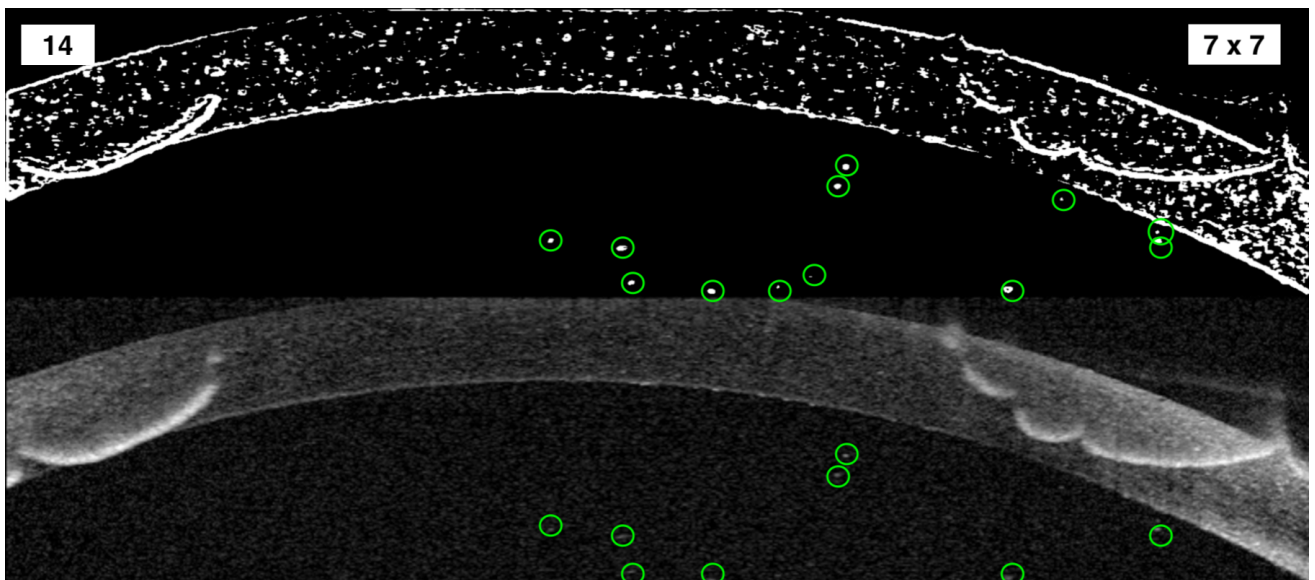


Figura 5.18: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 14 empleando una matriz de vecindad 7×7 sobre una tomografía de 1794×396 píxeles.

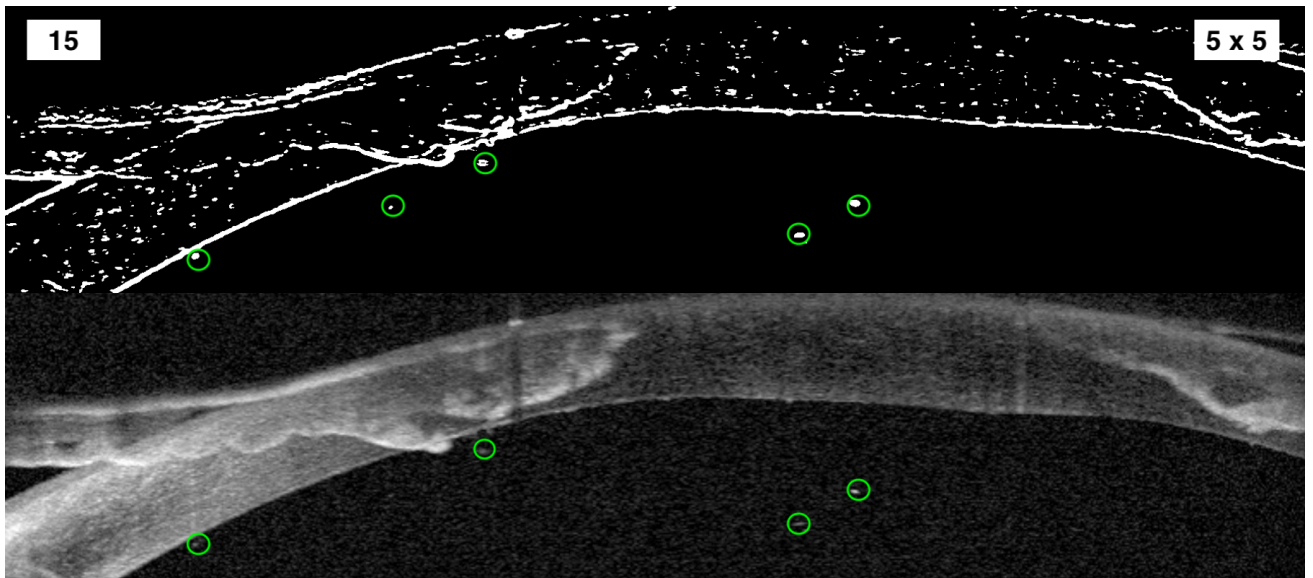


Figura 5.19: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 15 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1794×396 píxeles.

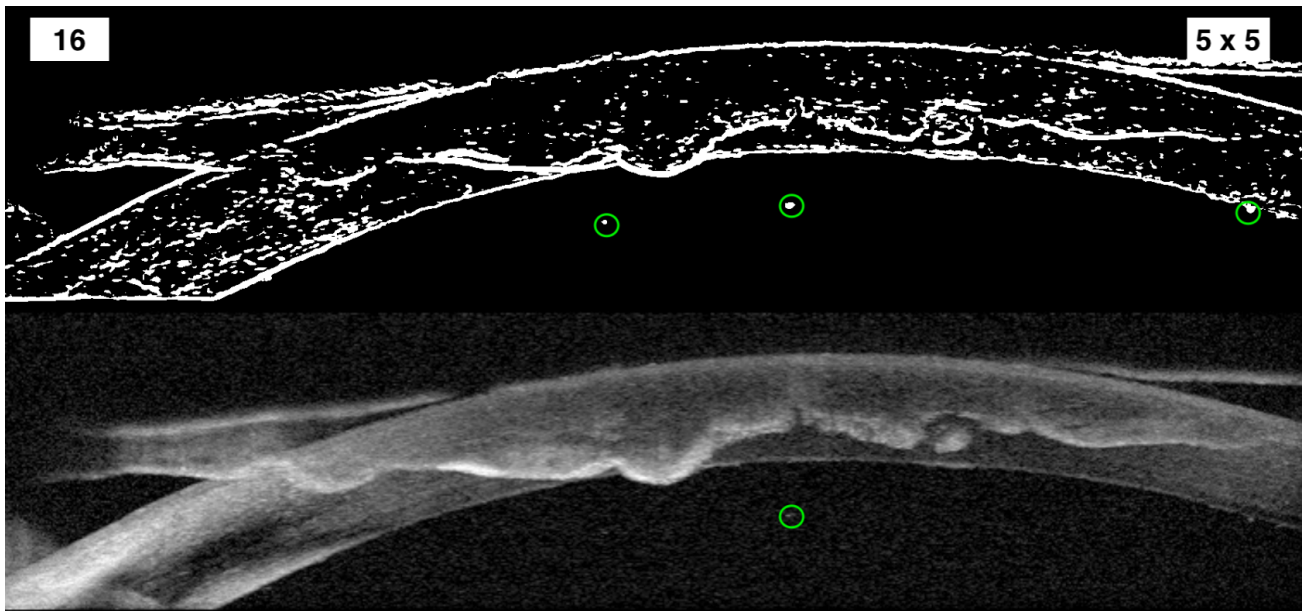


Figura 5.20: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 16 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1786×424 píxeles.

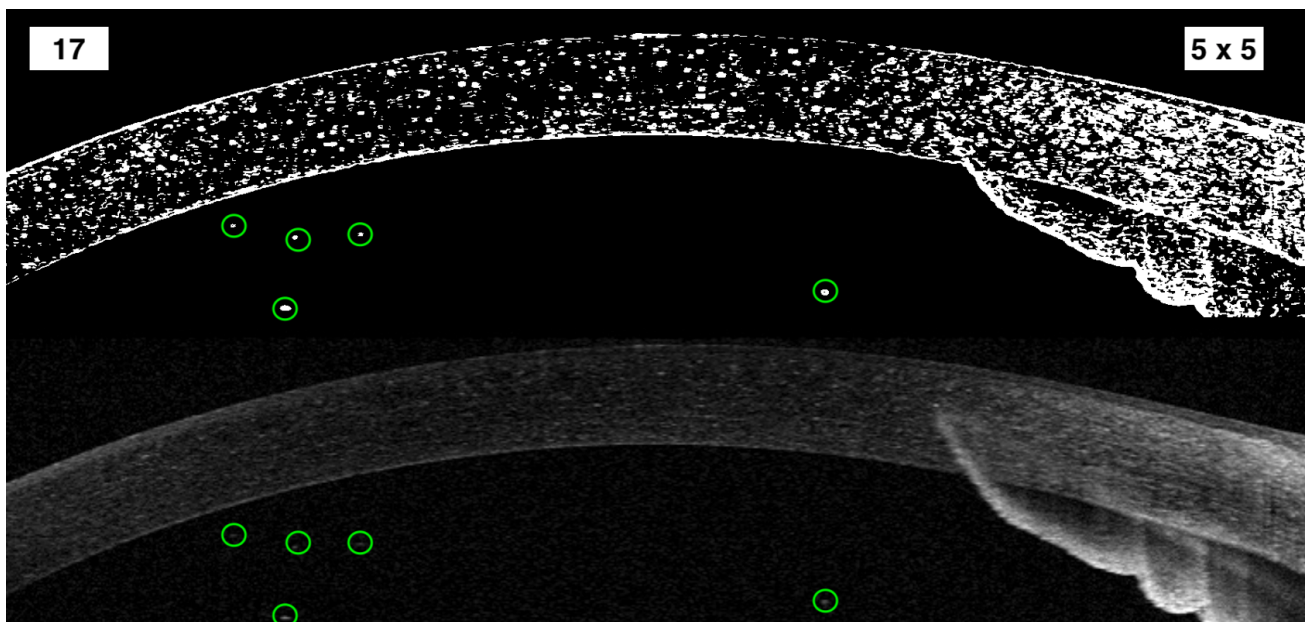


Figura 5.21: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 17 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1786×424 píxeles.

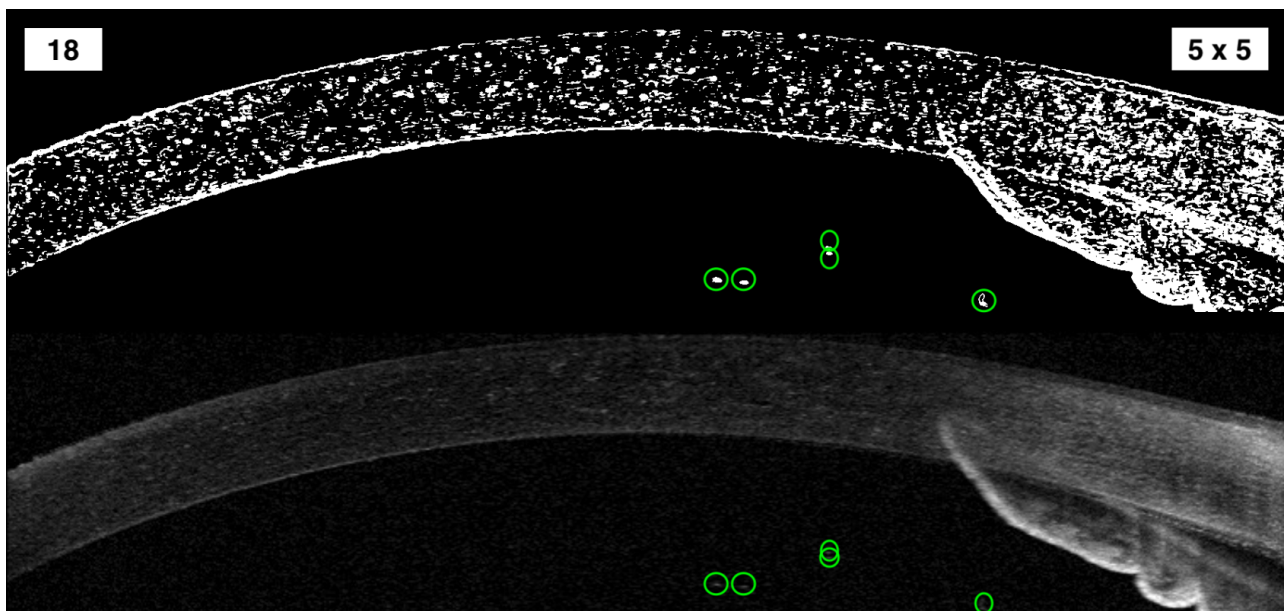


Figura 5.22: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 18 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1786×424 píxeles.

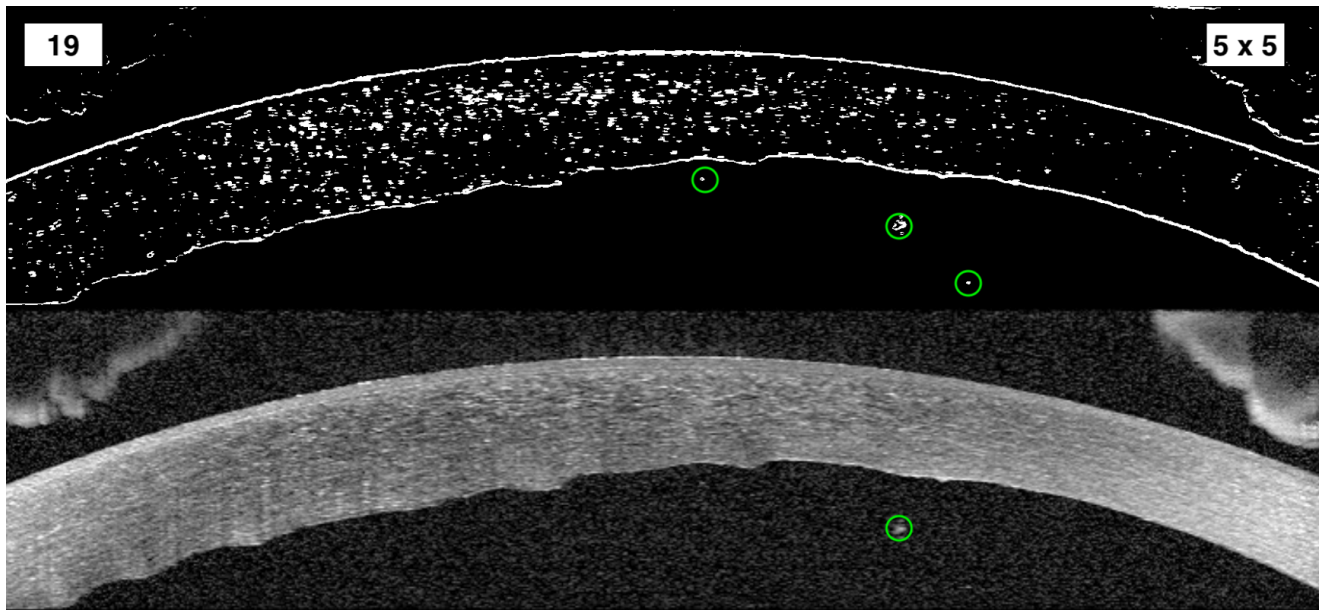


Figura 5.23: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 19 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1786×412 píxeles.

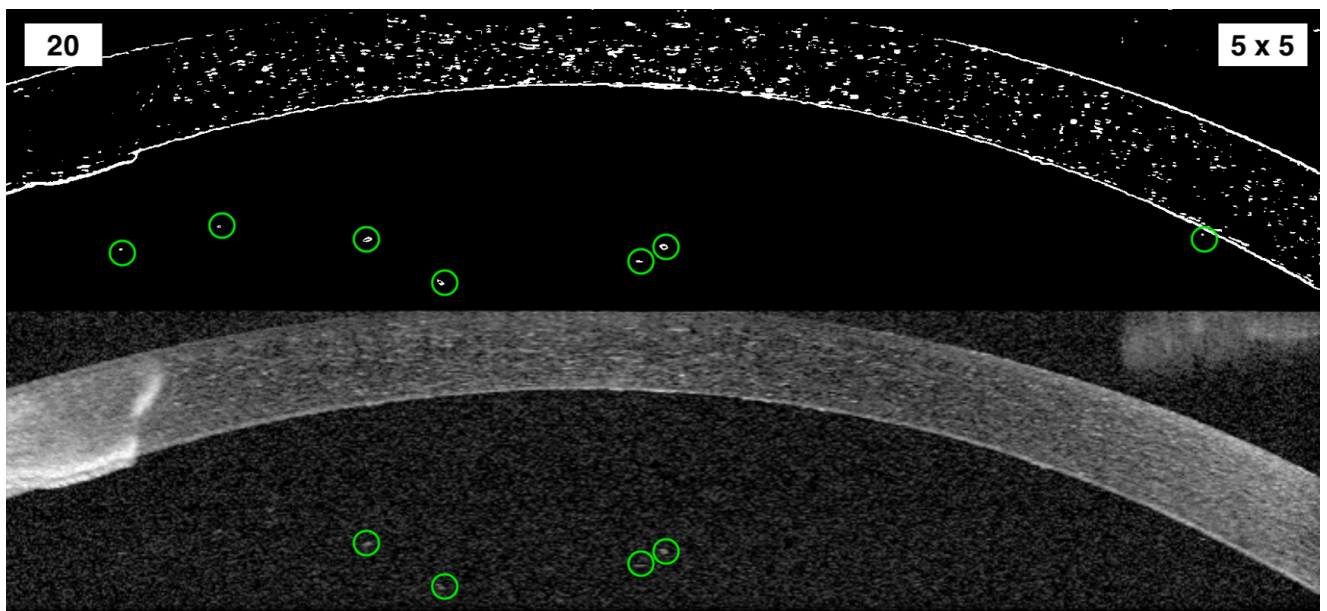


Figura 5.24: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 20 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1786×412 píxeles.

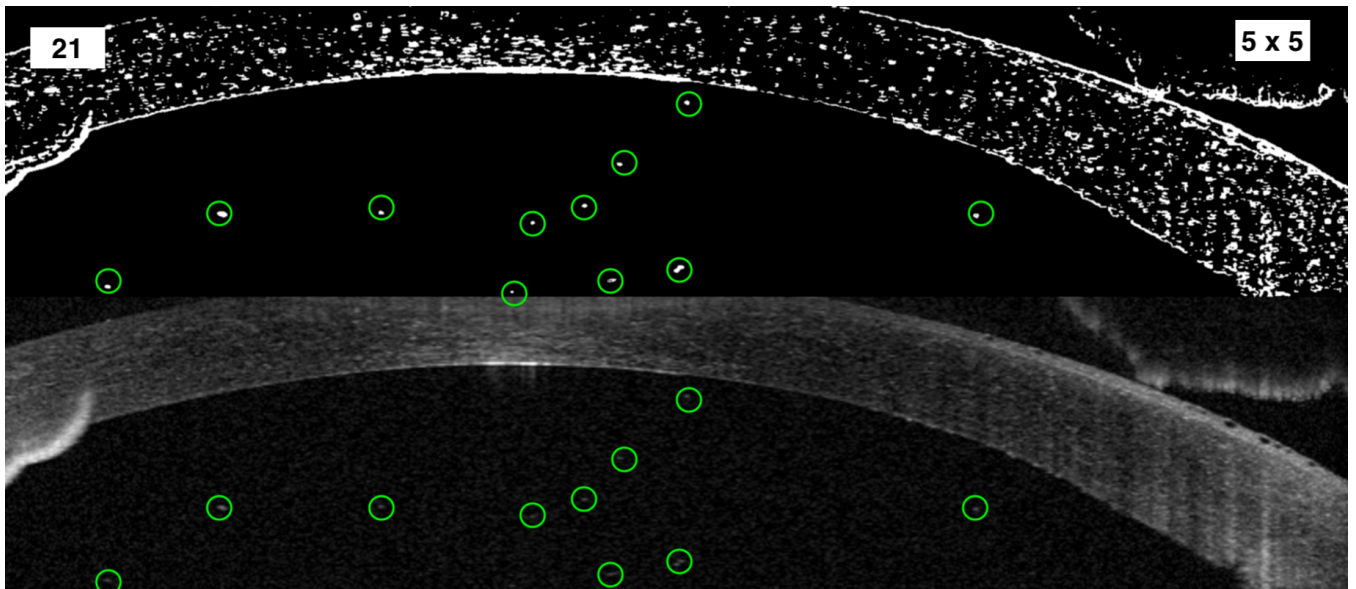


Figura 5.25: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 21 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1800×392 píxeles.

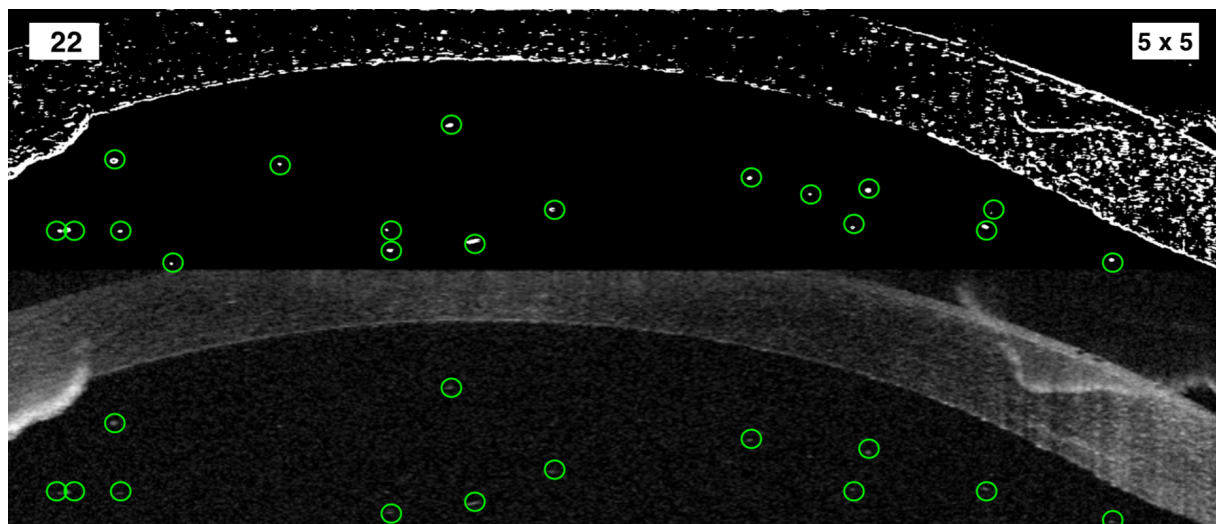


Figura 5.26: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 22 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1800×388 píxeles.

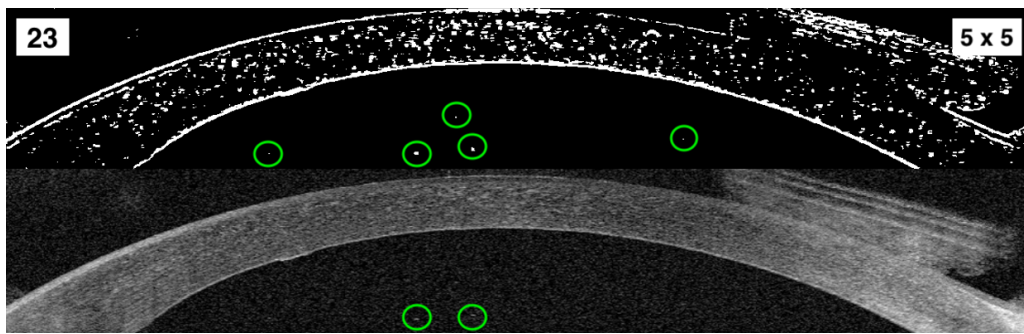


Figura 5.27: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 23 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 2040×216 píxeles.

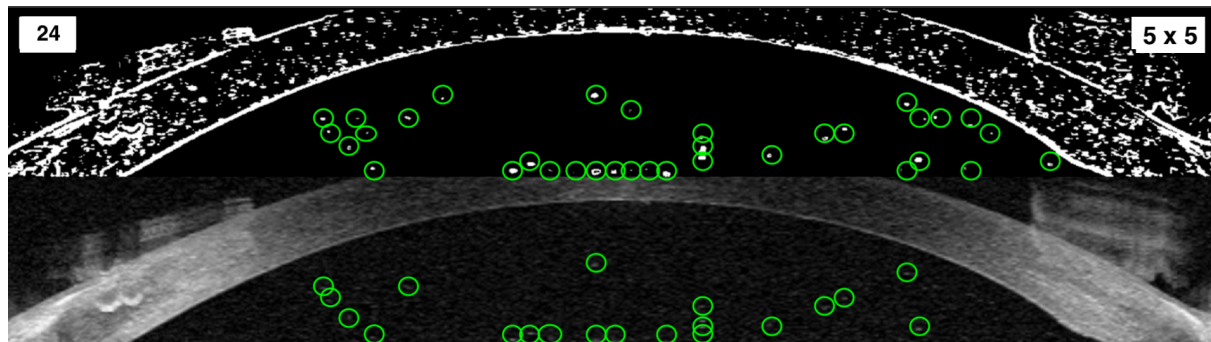


Figura 5.28: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 24 empleando una matriz de vecindad 5×5 sobre una tomografía de 1780×216 píxeles.

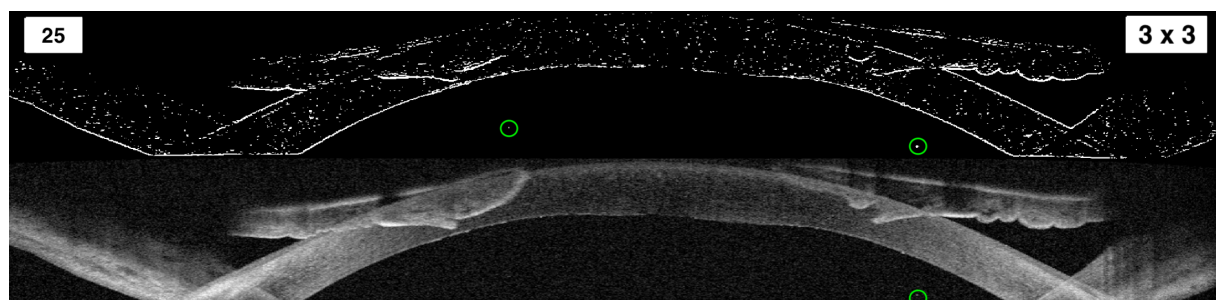


Figura 5.29: Segmentación de agregados celulares en la cámara anterior a través del algoritmo propuesto (imagen superior) y a través de la segmentación manual (imagen inferior). Esta segmentación corresponde al ojo patológico del paciente 25 empleando una matriz de vecindad 3×3 sobre una tomografía de 1940×236 píxeles.

Paciente	Algoritmo propuesto	Segmentación manual	Diferencia
1	14	10	4
2	8	6	2
3	50	36	14
4	20	10	10
5	6	6	0
6	4	1	3
7	3	1	2
8	1	1	0
9	15	11	4
10	9	4	5
11	10	5	5
12	10	6	4
13	17	10	7
14	12	8	4
15	5	4	1
16	3	1	2
17	5	5	0
18	5	5	0
19	3	1	2
20	7	4	3
21	11	10	1
22	18	13	5
23	5	2	3
24	34	20	14
25	2	1	1

Tabla 5.1: Conteo de agregados celulares a través del algoritmo propuesto y la segmentación manual para cada paciente. En la última columna se muestra la diferencia entre ambos métodos.

A continuación, se representa en la Figura 5.30 el número de agregados obtenidos a través de la segmentación manual contra los determinados mediante el algoritmo propuesto. El número de células flotantes obtenido por cada método se muestra en la Tabla 5.1. La relación entre ambas soluciones debería ser lineal con pendiente igual a la unidad. Para obtener el valor dicha pendiente m se realiza un ajuste de mínimos cuadrados.

Para realizar un análisis más profundo, en la Figura 5.31 se ajustará la representación anterior a una recta de pendiente igual a la unidad ($m=1$) y se determinará el coeficiente de correlación R . Este coeficiente oscila entre 0 y 1, e indica calidad del ajuste de la pendiente teórica a los puntos experimentales.

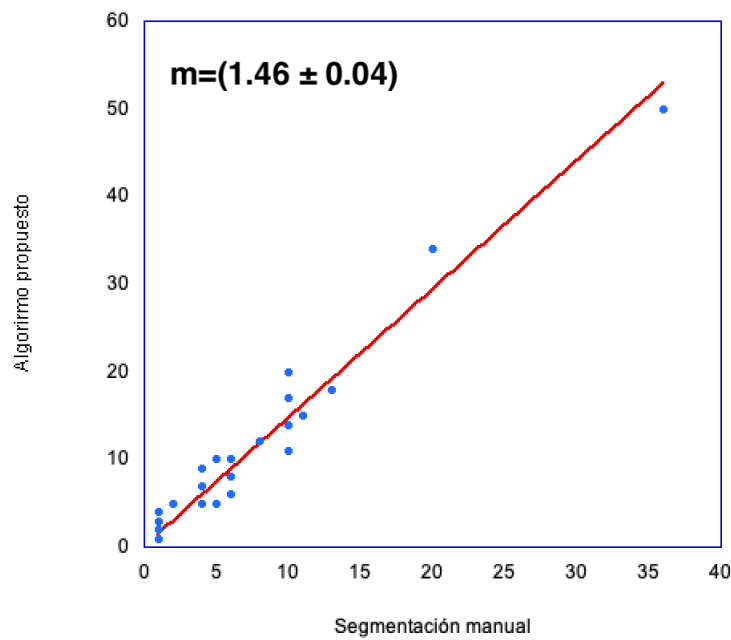


Figura 5.30: Número de agregados obtenidos a través de la segmentación manual contra los determinados a través del algoritmo propuesto. Tras realizar un ajuste de mínimos cuadrados se obtiene una pendiente de valor $m=(1.46 \pm 0.04)$.

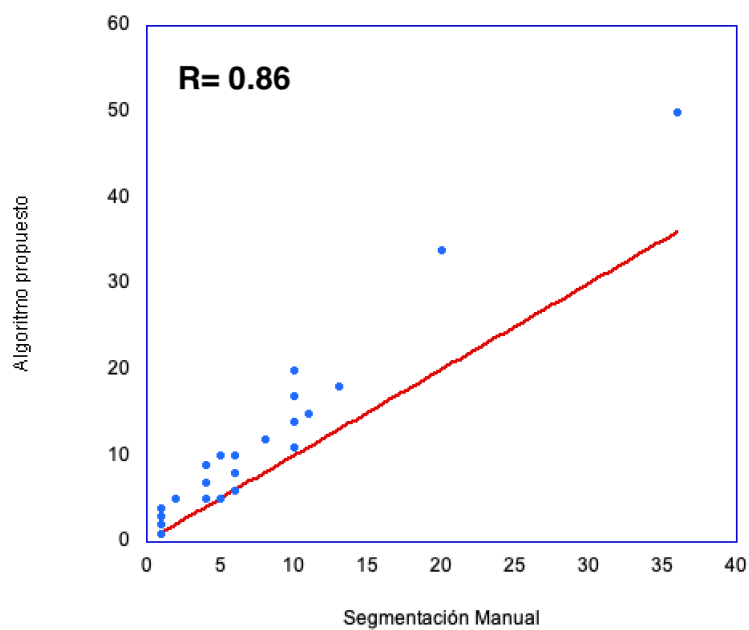


Figura 5.31: Número de agregados obtenidos a través de la segmentación manual contra los determinados a través del algoritmo propuesto. Esta representación ha sido ajustada a una recta de pendiente $m=1$, y se ha obtenido un coeficiente de correlación $R=0.86$.

A partir de la Figura 5.30 se obtiene que la resolución de agregados obtenidos a partir de ambos métodos obedece una relación lineal de pendiente $m=(1.46 \pm 0.04)$. En la Figura 5.31 esta misma resolución ha sido ajustada a la recta de pendiente igual a la unidad, y se obtiene un coeficiente de correlación $R=0.86$. La pendiente experimental m obtenida es mayor que la unidad, y por tanto la correlación con la pendiente teórica no alcanza el valor de 1. Esto se debe a que el algoritmo propuesto como norma general detecta más agregados que a través de la segmentación manual. Este número extra de píxeles no pueden ser considerados errores, sólo posibles células que no pueden distinguirse a simple vista en la segmentación manual. Actualmente, no habría forma de corroborar de una manera oftalmológica que estas posibles células sean realmente agregados. Por eso la importancia de que este método sea lo más objetivo y elemental posible.

En las Figuras 5.5 a 5.29 se puede observar cómo la delineación manual no es trivial debido al ruido de tipo *speckle* que se puede confundir con agregado. Por ello, la segmentación manual no es una técnica objetiva y no resulta eficaz. Lo importante de comparar ambos métodos, es que todas las células segmentadas a través de la segmentación manual han sido obtenidas a través del algoritmo propuesto.

Este análisis ha sido realizado sobre tomografías de coherencia óptica de 25 pacientes distintos. Por lo que se puede decir, que el método es válido intrapaciente, es decir, no depende del sujeto a examinar.

Por otro lado, en 20 de los casos ha sido elegida la matriz de vecindad 5×5 , 4 de los casos 3×3 y 1 de los casos 7×7 . La matriz de vecindad ha sido elegida en cada caso en función de en cual de ellas se observa el mejor el punto de umbralización. Es decir, el punto en el que par de valores valor medio - desviación estándar, para la región fuera de la córnea y para la región en el interior de la cámara anterior dejan de solapar. Estas representaciones pueden observarse en el apéndice. El tamaño de la matriz de vecindad óptimo depende principalmente del tamaño de los agregados y del moteado *speckle*. Al haber empleado la matriz 5×5 en el 80 % de los casos, se pueden decir que, de manera general, es la matriz que mejor comprende el tamaño de las células flotantes y del ruido. Sin embargo, no se puede hacer una norma para establecer una determinada matriz pues los resultados entre pacientes pueden llegar a ser muy dispares.

5.3. Segmentación en ojos control

En esta sección, se empleará el algoritmo propuesto en muestras de ojos sin uveítis. En concreto, pertenecen a los ojos control de 8 de los anteriores pacientes. A continuación, se muestran las representaciones media - desviación estándar de cada uno de los casos para observar el punto de umbralización. Teóricamente, debería cumplirse que este par de magnitudes coincidiera tanto para la región de fuera de la córnea como para en el interior de la cámara anterior, pues no existe ninguna célula flotante en su interior. Es decir, no debería haber punto de umbralización pues ambas magnitudes deberían de solapar en todos sus valores.

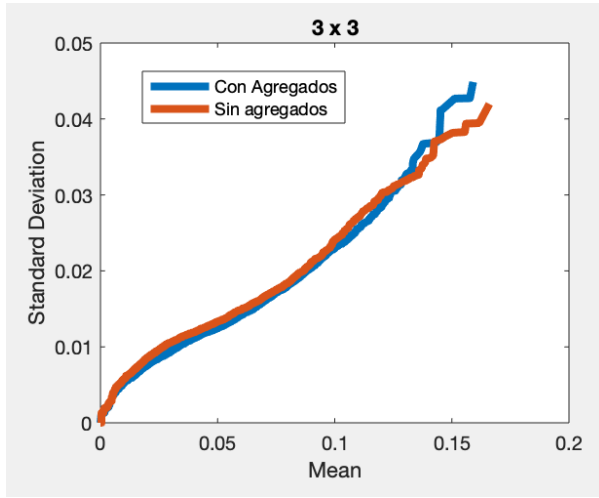


Figura 5.32: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

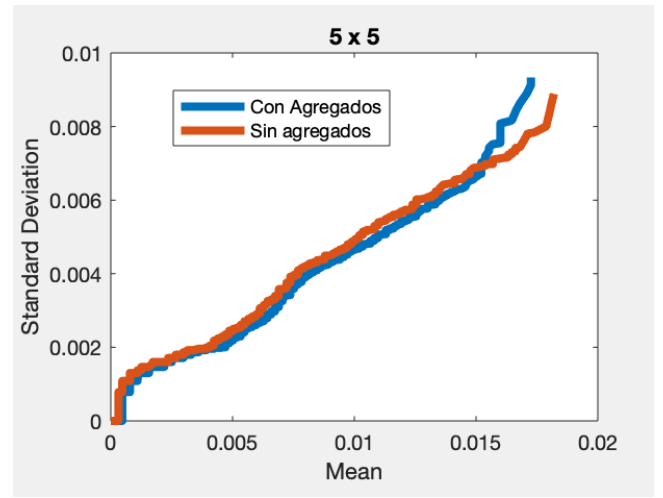


Figura 5.33: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

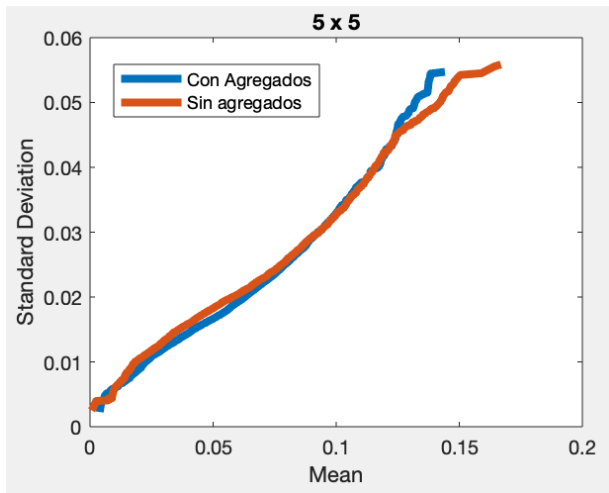


Figura 5.34: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

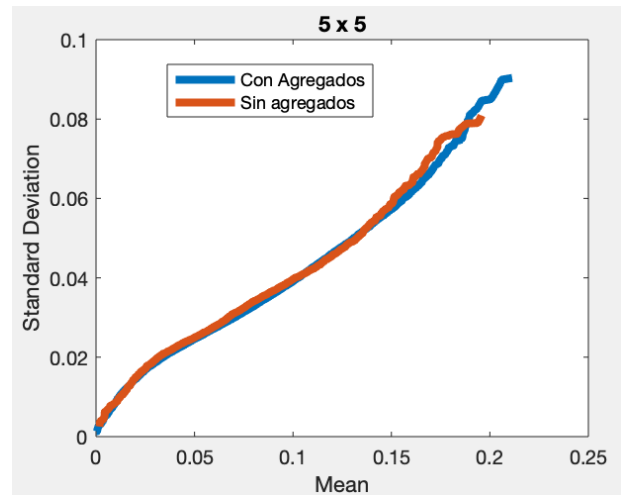


Figura 5.35: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

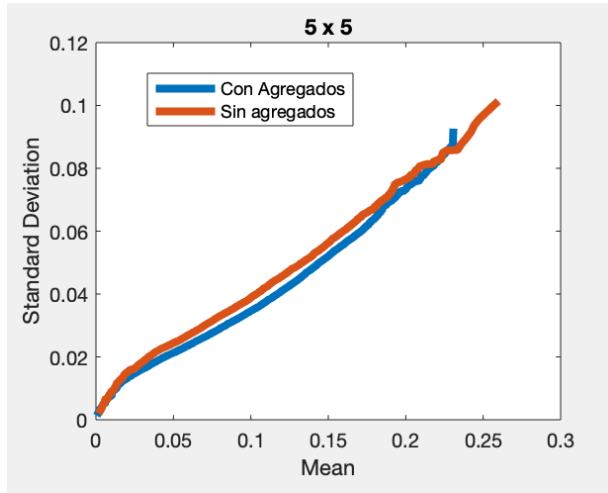


Figura 5.36: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

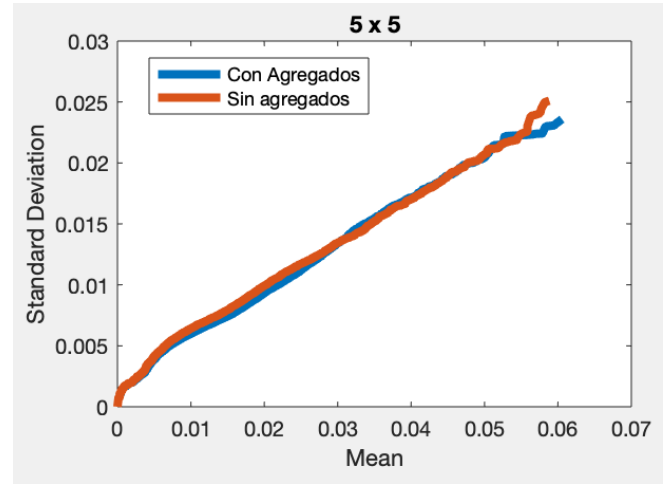


Figura 5.37: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

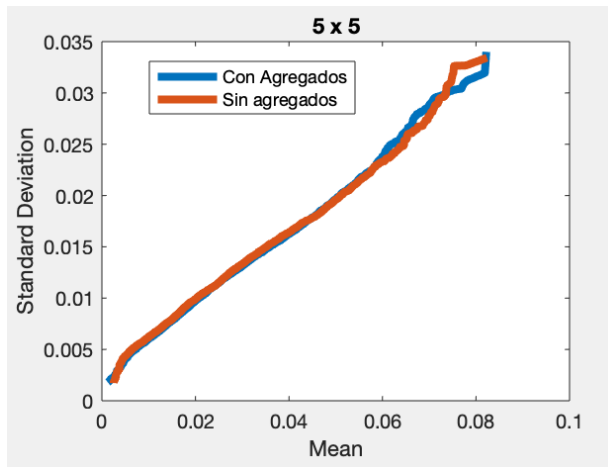


Figura 5.38: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

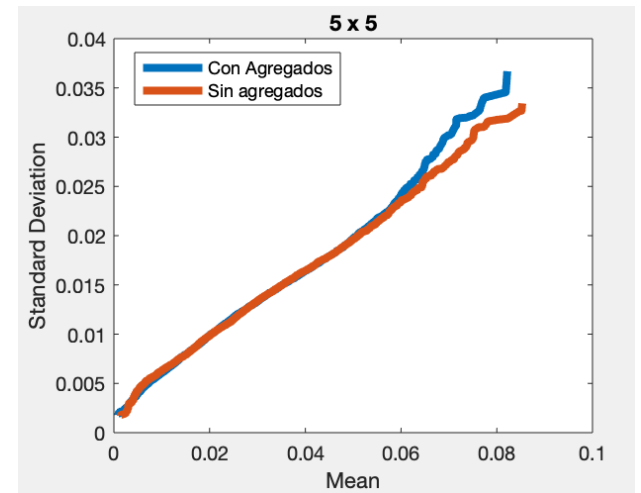


Figura 5.39: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

Se han mostrado las representaciones media - desviación estándar obtenidos para cada uno de los ojos control. Se observa que estas magnitudes solapan prácticamente para todos sus valores. Pueden aparecer pequeñas variaciones al final de estas curvas. Sin embargo, se sigue observando que ambas magnitudes continúan presentando valores muy similares. Estos resultados pueden ser comparados con las representaciones realizadas en los ojos con uveítis que aparecen en el apéndice. En los ojos con uveítis, se observa que la media y la desviación estándar de ambas regiones solapan hasta cierto punto a partir del cual la región en el interior

de la cámara anterior comienza a presentar valores muy elevados. Esto se debe a la presencia de agregados celulares, pues la intensidad de sus píxeles no se rige por la distribución Gamma. En el caso de los ojos control no se produce un punto claro de umbralización. Esto demuestra que el algoritmo propuesto es consistente con la teoría explicada anteriormente.

Capítulo 6

Conclusiones

En este trabajo, el origen y el comportamiento del *speckle* ha sido estudiado. El ruido característico provocado por la retrodispersión múltiple ha sido ajustado a los modelos estadísticos que según la teoría mejor funcionan: Rayleigh, Rician, Gamma, Weibull, Nakagami y Generalized Gamma. Tras este análisis se ha comprobado que el modelo que mejor describe el *speckle* en las tomografías oculares es la distribución Gamma.

El hecho de que el *speckle* se comporte según la distribución Gamma, es la base en la que se fundamenta el algoritmo propuesto. Al obedecer una distribución conocida, el valor medio y la desviación estándar de los píxeles ruido deben ser valores determinados. Por lo que comparando estas magnitudes en una región fuera de la córnea y en el interior de la cámara anterior, es posible determinar los píxeles asociados a los agregados celulares.

El algoritmo ha sido empleado en tomografías de coherencia óptica pertenecientes a 25 pacientes con uveítis. Esta técnica ha sido comparada con la segmentación manual que es el método con el que los oftalmólogos miden la evolución de esta enfermedad. La pendiente entre la resolución obtenida por ambos métodos es $m=(1.46 \pm 0.04)$. Además se ha obtenido el coeficiente de correlación $R=0.86$ de ajustar esta resolución a la recta de pendiente ideal 1. No obstante, aunque ambas magnitudes no sean igual a la unidad, todos los agregados obtenidos a través de la segmentación manual han sido segmentados a través de este algoritmo. En la mayoría de los casos el algoritmo propuesto segmenta mayor número de píxeles. Esto puede deberse a que en la segmentación manual solo se consideran agregados aquellos píxeles que puedan observarse a simple vista, y por tanto, contiene el sesgo del examinador. Además, puede resultar una tarea difícil cuando el ruido *speckle* es muy notorio y no puede considerarse una técnica realmente eficaz. Tras esta comparación, se puede decir que la técnica ha sido validada de manera intrapaciente, es decir, no depende del sujeto a examinar. El algoritmo propuesto produce imágenes limpias de ruido que permiten identificar los agregados con gran facilidad independientemente del paciente.

Se han considerado diferentes matrices de vecindad para determinar los valores medios y las desviaciones estándar. Modificando estas matrices se varía el número de píxeles que se consideran alrededor de cada uno para determinar estas magnitudes. El tamaño óptimo de la matriz dependerá del tamaño del ruido moteado y de los agregados provocados por la uveítis.

Al haber empleado la matriz 5×5 en el 80 % de los casos, se pueden decir que, de manera general, es la matriz que mejor comprende el tamaño de las células flotantes y del ruido en cada caso. Sin embargo, no se puede hacer una norma para establecer una determinada matriz pues los resultados entre pacientes pueden llegar a ser muy dispares.

Un aspecto a destacar es que no todas las tomografías analizadas presentan el mismo espacio en la región fuera de la córnea. Esta región es empleada para analizar la distribución estadística del *speckle*. Cuanto mayor número de píxeles, mayor número de puntos y por tanto, mayor fiabilidad a la hora de analizar la distribución y segmentar los agregados. Un ejemplo de tomografía ideal es la que se muestra en la Figura 4.5.

Para probar que el método es coherente, se ha aplicado este algoritmo en tomografías oculares correspondientes a 8 ojos sanos. Se ha comprobado que los puntos (valor medio, desviación estándar) en ambas regiones, solapan prácticamente para todos los valores. No puede distinguirse un punto claro de umbralización y por tanto la segmentación no puede llevarse a cabo correctamente. Esto demuestra que el método es consistente con la teoría.

Como trabajo futuro, se podría aumentar el número de pacientes con uveítis sobre el que aplicar el algoritmo propuesto para intentar buscar soluciones para pasar de un algoritmo guiado a un algoritmo totalmente automatizado. De esta manera, se automatizaría la selección de las regiones, la elección de la matriz de vecindad y la selección del punto de umbralización.

Referencias

- [1] Drexler, W., Fujimoto, J. G. (2008). State-of-the-art retinal optical coherence tomography. *Progress in retinal and eye research*, 27(1), 45-88.
- [2] Fujimoto, J. G., Pitris, C., Boppart, S. A., Brezinski, M. E. (2000). Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia*, 2(1-2), 9-25.
- [3] A. Wax and J. E. Thomas, "Measurement of smoothed Wigner phase-space distributions for small-angle scattering in a turbid medium," *J. Opt. Soc. Am. A* 15, 1986–1908 (1998).
- [4] Curatolo, A., Kennedy, B. F., Sampson, D. D., Hillman, T. R. (2013). *Speckle in optical coherence tomography* (pp. 211-277). Taylor Francis.
- [5] Invernizzi, A., Cozzi, M., Staurenghi, G. (2019). Optical coherence tomography and optical coherence tomography angiography in uveitis: A review. *Clinical experimental ophthalmology*, 47(3), 357-371.
- [6] González, M. M., Solano, M. M., Porco, T. C., Oldenburg, C. E., Acharya, N. R., Lin, S. C., Chan, M. F. (2018). Epidemiology of uveitis in a US population-based study. *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, 8(1), 6.
- [7] Tsirouki, T., Dastiridou, A., Symeonidis, C., Tounakaki, O., Brazitikou, I., Kalogeropoulos, C., Androudi, S. (2018). A focus on the epidemiology of uveitis. *Ocular immunology and inflammation*, 26(1), 2-16.
- [8] Real, E., Demetrio, R., Casado A., Gutiérrez, J.A., López J. M, Conde, O. (2019) Caracterización y conteo celular en uveitis mediante Tomografía de Coherencia Óptica. *Optoel (XI Reunion Espanola de Optoelectronica)*, Zaragoza, Espana
- [9] Kempen, J. H., Ganesh, S. K., Sangwan, V. S., Rathinam, S. R. (2008). Interobserver agreement in grading activity and site of inflammation in eyes of patients with uveitis. *American journal of ophthalmology*, 146(6), 813-818.
- [10] Amini, Z., Rabbani, H. (2017). Optical coherence tomography image denoising using

Gaussianization transform. *Journal of Biomedical Optics*, 22(8), 086011.

[11] Buades, A., Coll, B., Morel, J. M. (2005, June). A non-local algorithm for image denoising. In 2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'05) (Vol. 2, pp. 60-65). IEEE.

[12] B. Chong, Y. Zhu, “Speckle reduction in optical coherence tomography images of human finger skin by wavelet modified BM3D filter,” *Opt. Commun.* 291, 461–469 (2013).

[13] González, J. M. S. (2015). Tomografía de coherencia óptica: técnicas avanzadas en aplicaciones clínicas de la fisiología ocular. *Gaceta de optometría y óptica oftálmica*, (500), 64- 71.

[14] Madsen J., Tawfieq M., *Optical Coherence Tomography*. January (2011)

[15] F. L. Pedrotti, L. S. Pedrotti, and L. M. Pedrotti. *Introduction to Optics*. Pearson Prentice Hall, 3rd edition, 2007.

[16] J. M. Schmitt. Optical coherence tomography (oct): a review. *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron.*, Vol. 5:1205 –1215, 1999.

[17] The principles of Optical Coherence Tomography for posterior eye imaging. Principles of OCT. Chapter 2. <https://research.vu.nl/ws/portalfiles/portal/42146308/chapter+2+-+Principles+of+OCT.pdf>

[18] Curatolo, A., Kennedy, B. F., Sampson, D. D., Hillman, T. R. (2013). Speckle in optical coherence tomography (pp. 211-277). Taylor Francis.

[19] Li, M., Idoughi, R., Choudhury, B., Heidrich, W. (2017). Statistical model for OCT image denoising. *Biomedical Optics Express*, 8(9), 3903-3917.

[20] Jesus, D. A., Iskander, D. R. (2017). Assessment of corneal properties based on statistical modeling of OCT speckle. *Biomedical Optics Express*, 8(1), 162-176.

[21] Raju, B. I., Srinivasan, M. A. (2002). Statistics of envelope of high-frequency ultrasonic backscatter from human skin in vivo. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 49(7), 871-882.

[22] Lindenmaier, A. A., Conroy, L., Farhat, G., DaCosta, R. S., Flueraru, C., Vitkin, I. A. (2013). Texture analysis of optical coherence tomography speckle for characterizing biological tissues in vivo. *Optics letters*, 38(8), 1280-1282.

[23] Papoulis, Athanasios; Pillai, S. (2001) *Probability, Random Variables and Stochastic Processes*. ISBN 0073660116, ISBN 9780073660110

[24] Abramowitz, M. and Stegun, I. A. (ed.), *Handbook of Mathematical Functions*, Na-

tional Bureau of Standards, 1964; reprinted Dover Publications, 1965. ISBN 0-486-61272-4

[25] Hogg, R. V.; Craig, A. T. (1978). Introduction to Mathematical Statistics (4th ed.). New York: Macmillan. pp. Remark 3.3.1. ISBN 0023557109.

[26] Johnson, Norman L.; Kotz, Samuel; Balakrishnan, N. (1994), Continuous univariate distributions. Vol. 1, Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics: Applied Probability and Statistics (2nd ed.), New York

[27] Mitra, Rangeet; Mishra, Amit Kumar; Choubisa, Tarun (2012). "Maximum Likelihood Estimate of Parameters of Nakagami-m Distribution". International Conference on Communications, Devices and Intelligent Systems (CODIS), 2012: 9–12.

[28] Stacy, E.W. (1962). A Generalization of the Gamma Distribution. Annals of Mathematical Statistics 33(3): 1187-1192.

[29] Moreno, Á. M. P., Verdú, F. M. M. (2014). Fundamentos de visión binocular (Vol. 74). Universitat de València.

[30] OFTALVIST: <https://www.oftalvist.es/blog/uvea-del-ojo-definicion-y-patologias>

[31] Fundación Española de Reumatología: <https://inforeuma.com/enfermedades-reumaticas/uveitis/>

[32] Rodríguez-García, A. (2015). Importancia de la evaluación oftalmológica en pacientes con artritis idiopática juvenil. Reumatología Clínica, 11(3), 133-138

[33] Agrawal, R. V., Murthy, S., Sangwan, V., Biswas, J. (2010). Current approach in diagnosis and management of anterior uveitis. Indian journal of ophthalmology, 58(1), 11.

[34] Manual Spectralis OCT: http://www.seeof.es/archivos/eventos_adjunto_2012_47_2.pdf

[35] Kirillin, M. Y., Farhat, G., Sergeeva, E. A., Kolios, M. C., Vitkin, A. (2014). Speckle statistics in OCT images: Monte Carlo simulations and experimental studies. Optics letters, 39(12), 3472-3475.

[36] Kostyszak, M. A., Danielewska, M. E., Niemczyk, M., Lewandowski, D., Iskander, D. R. (2020). Relationships between corneal OCT speckle parameters, corneal deformation parameters and ocular biometrics in porcine eyes in intraocular pressure elevation study. Investigative Ophthalmology Visual Science, 61(7), 5214-5214.

Apéndice

En este apéndice se mostrarán las representaciones valor medio - desviación estándar obtenidos para cada uno de los 25 pacientes con uveítis. En estas figuras, se muestra el punto de umbralización (X) escogido en cada caso para binarizar la imagen, y por tanto, para segmentar los agregados en cada una de las tomografías que aparecen en los resultados. En la parte superior de cada una se muestra el número del paciente y la matriz de vecindad empleada en cada caso.

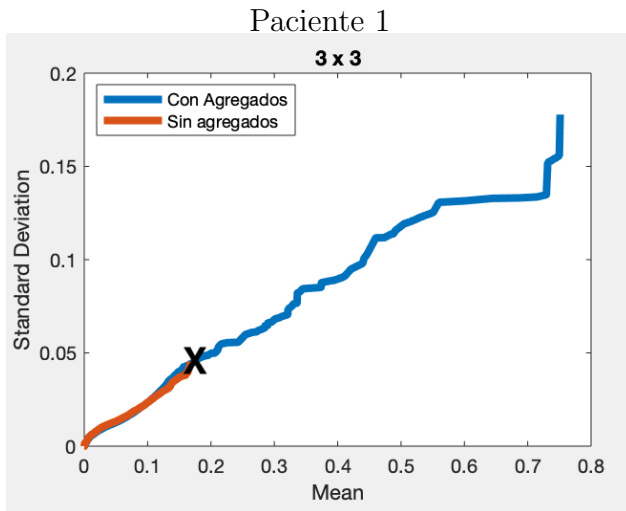


Figura 6.1: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

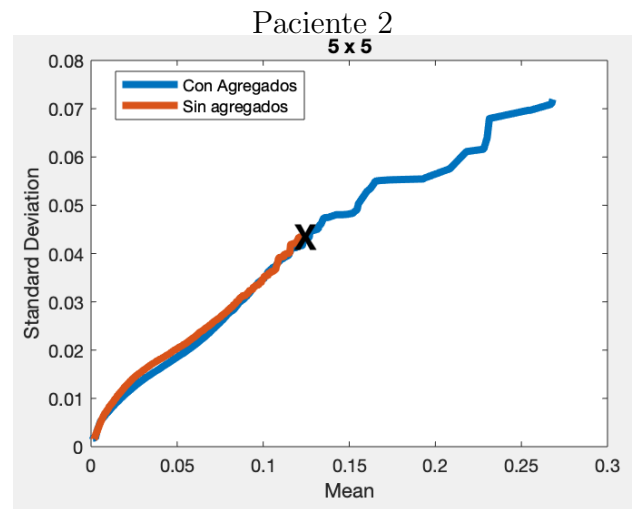


Figura 6.2: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

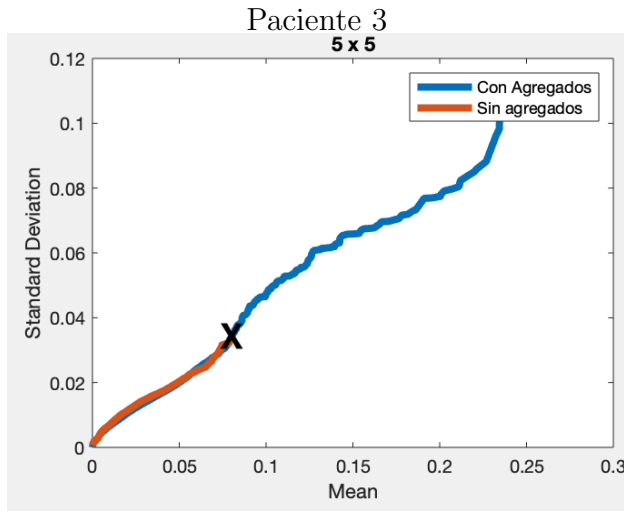


Figura 6.3: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

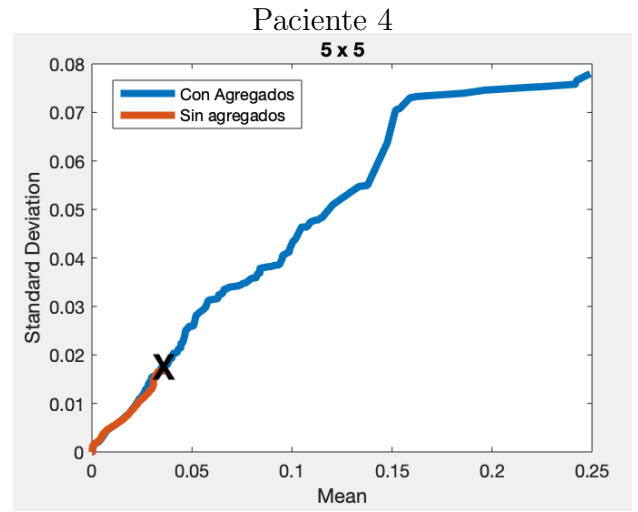


Figura 6.4: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

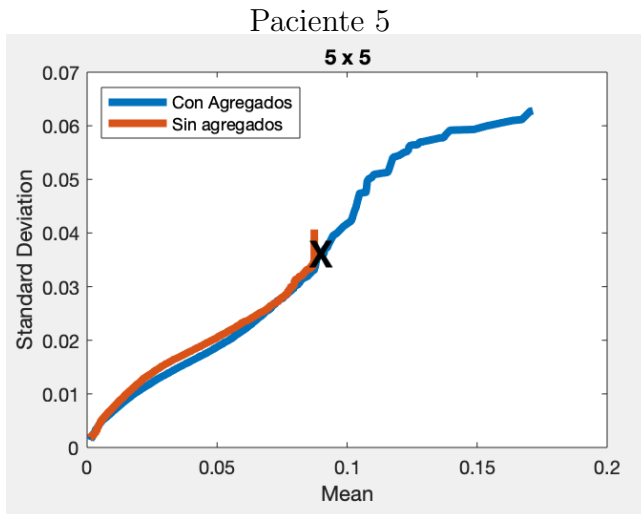


Figura 6.5: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

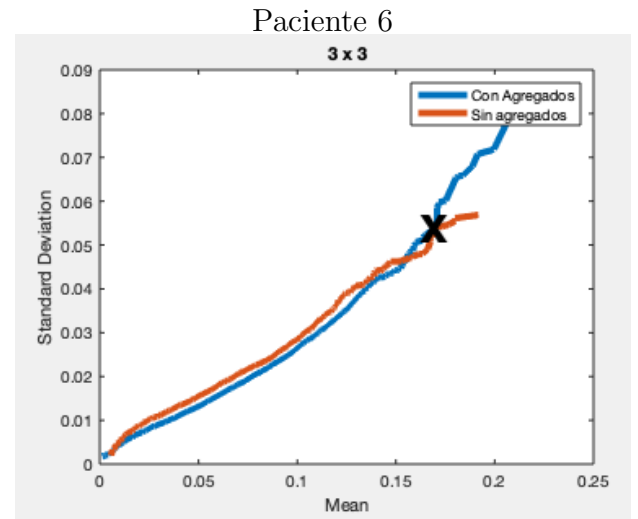


Figura 6.6: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

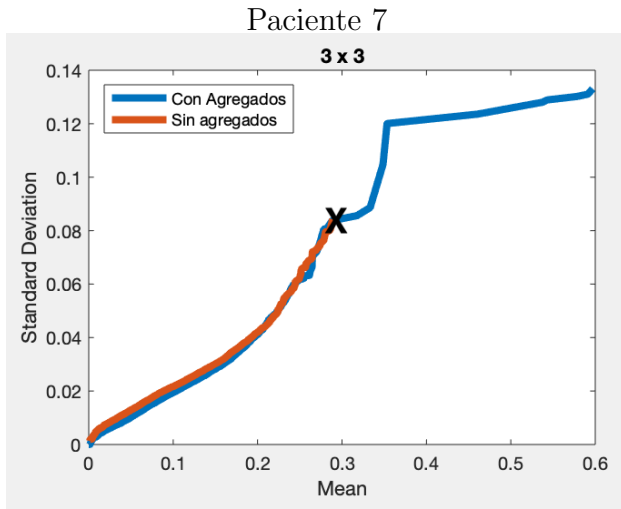


Figura 6.7: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

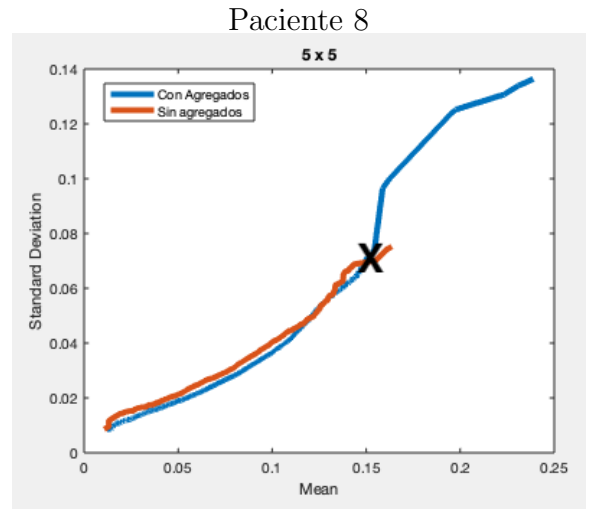


Figura 6.8: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

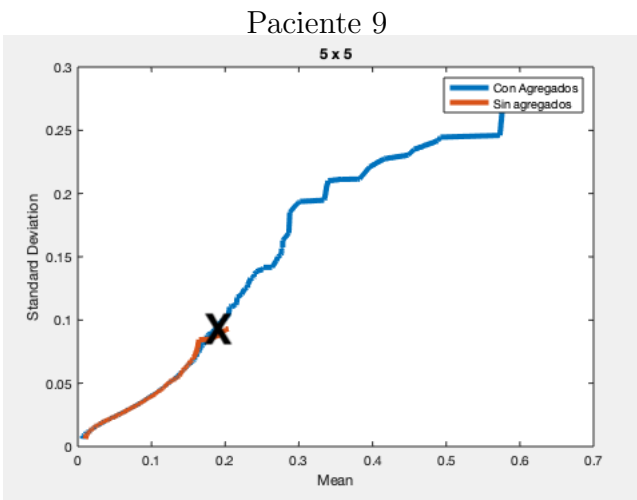


Figura 6.9: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

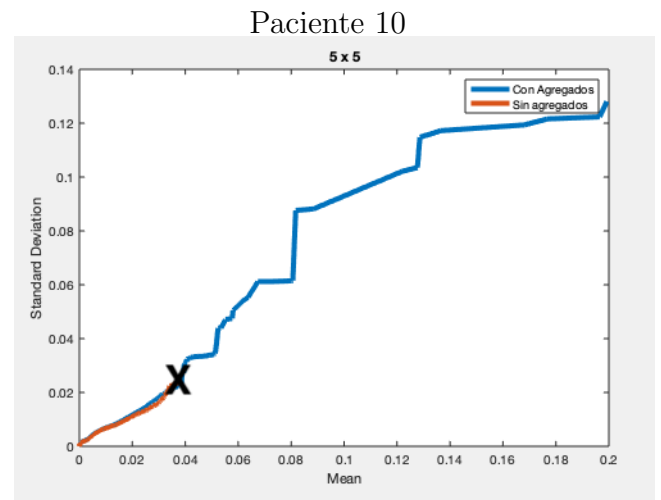


Figura 6.10: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

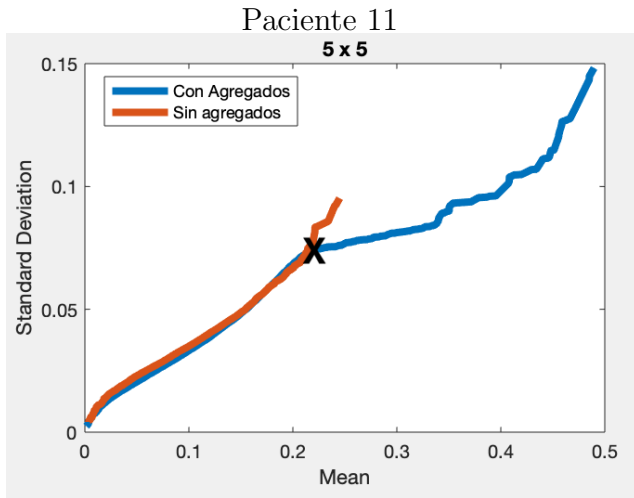


Figura 6.11: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

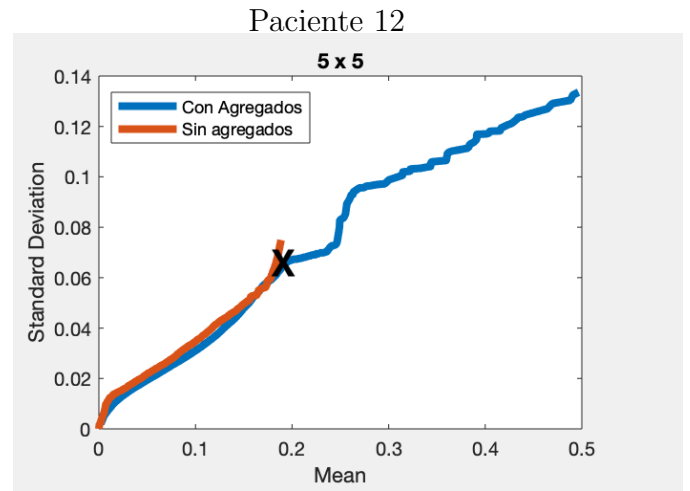


Figura 6.12: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

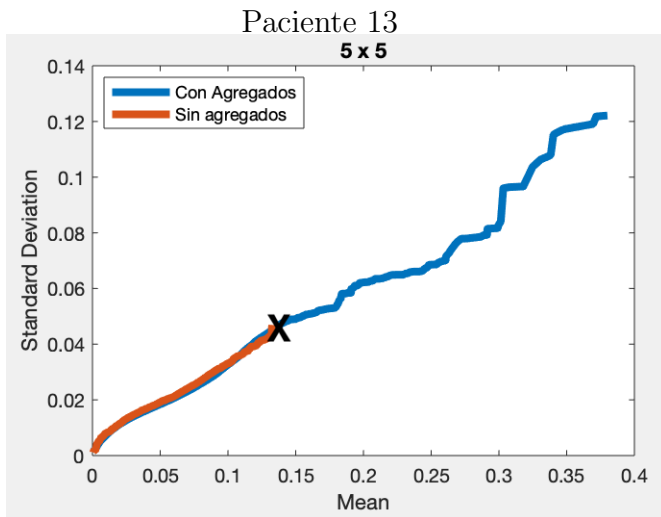


Figura 6.13: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

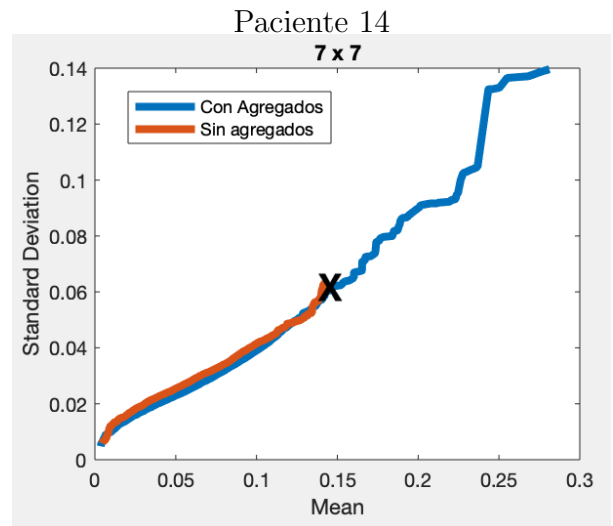


Figura 6.14: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

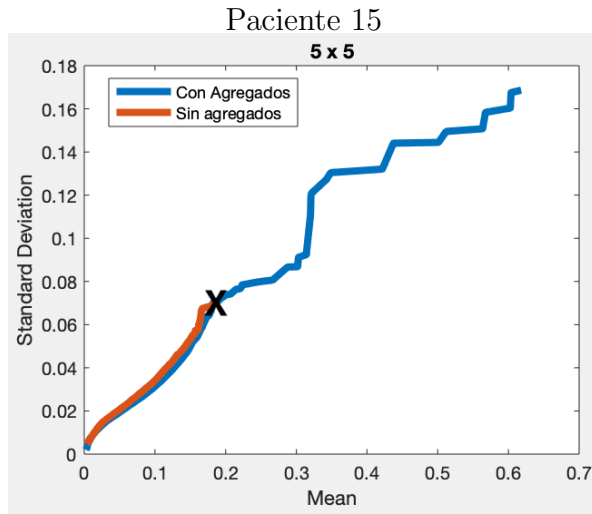


Figura 6.15: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

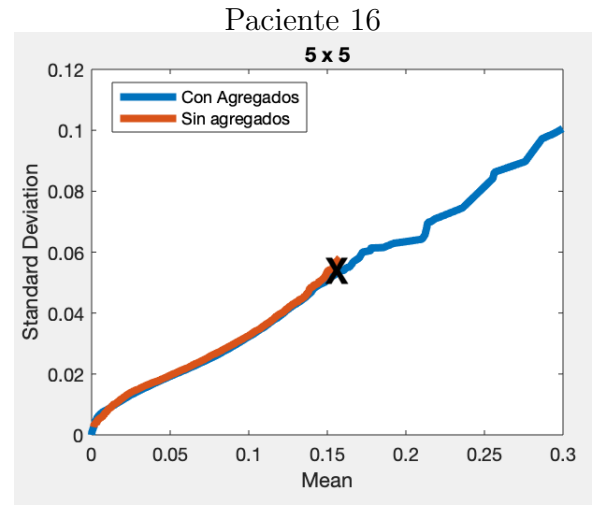


Figura 6.16: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

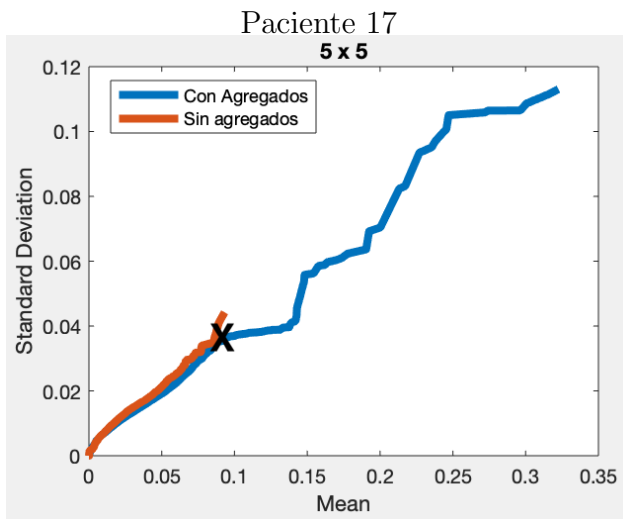


Figura 6.17: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

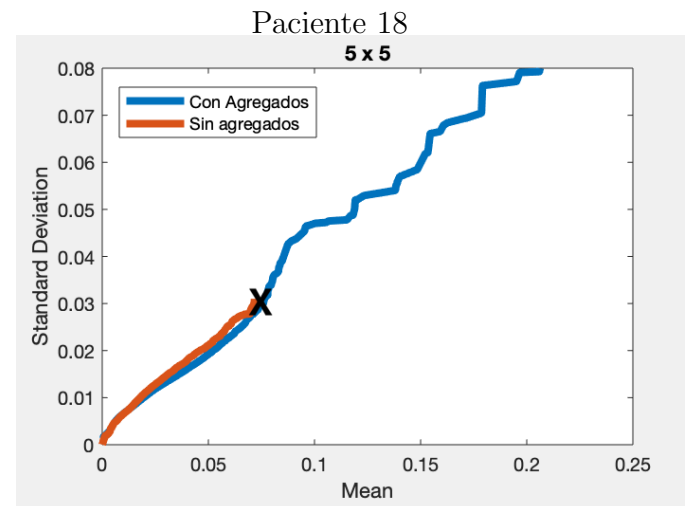


Figura 6.18: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

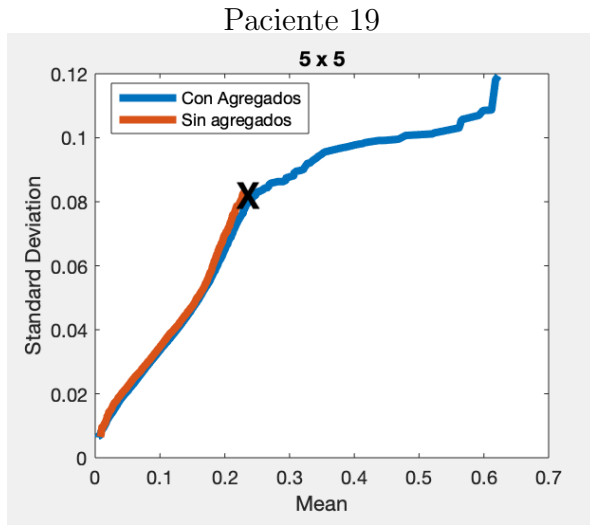


Figura 6.19: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

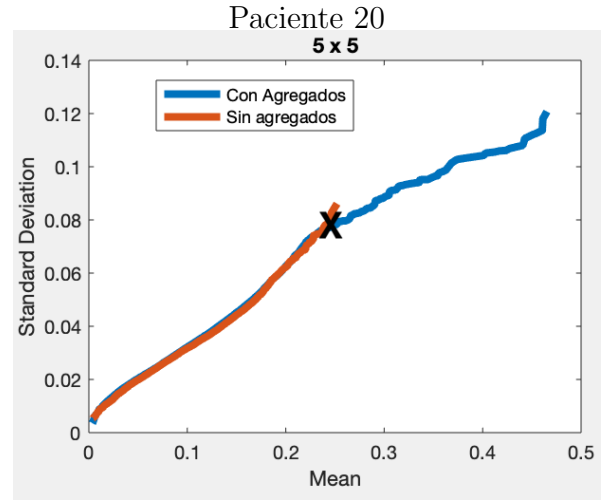


Figura 6.20: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

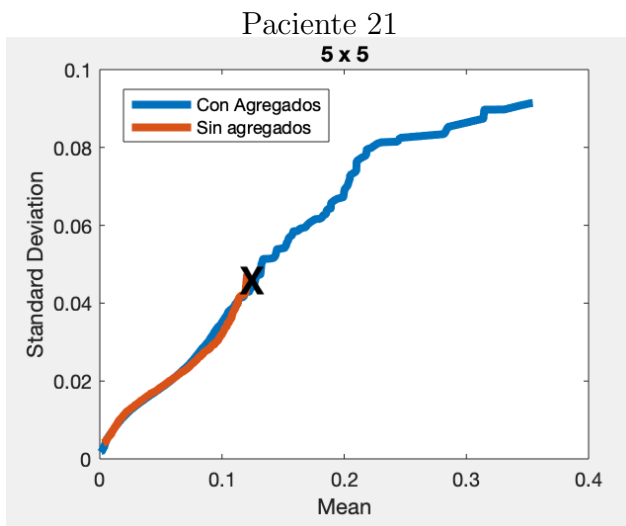


Figura 6.21: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

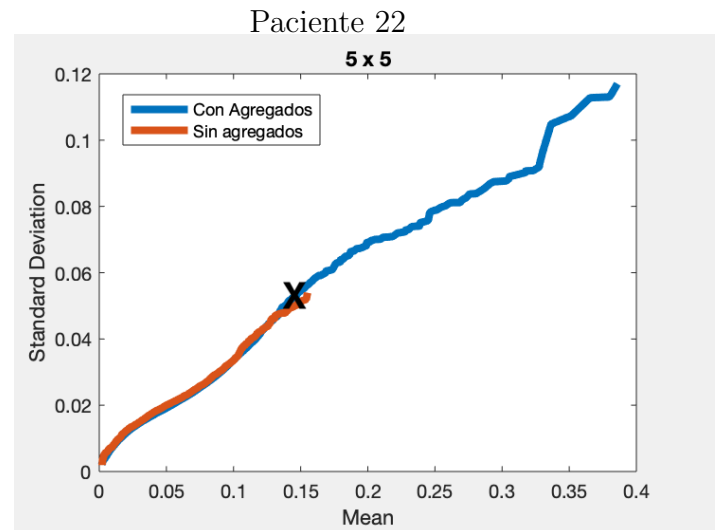


Figura 6.22: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

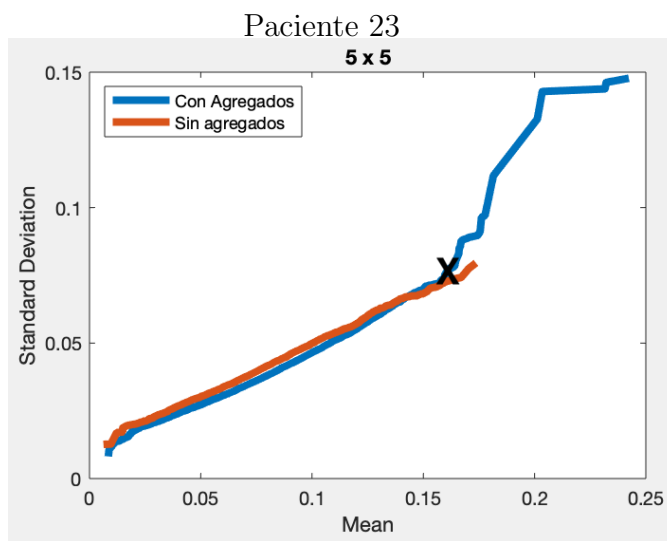


Figura 6.23: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

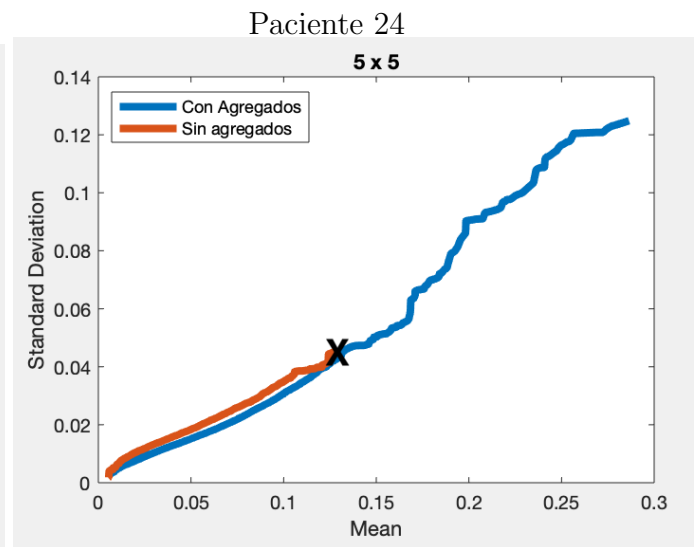


Figura 6.24: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul).

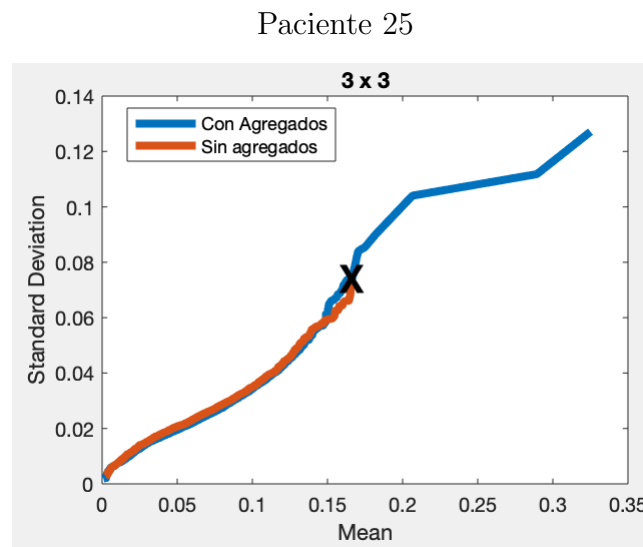


Figura 6.25: Desviación estándar vs Valor medio para la región fuera de la córnea (rojo) y para al región en el interior de la cámara anterior (azul)